

**Research Article**

# Mucílago de cacao como agente antifúngico in vitro frente a *Moniliophthora roreri*

## *Cocoa mucilage as an in vitro antifungal agent against Moniliophthora roreri*



Ruperty-Parraga, Jackson Emilio<sup>1</sup>



<https://orcid.org/0009-0000-7021-2381>



[jackson.ruperty2016@uteq.edu.ec](mailto:jackson.ruperty2016@uteq.edu.ec)



Ecuador, Quevedo, Universidad Técnica Estatal de Quevedo.



Ponce-Arévalo, Lady Diana<sup>2</sup>



<https://orcid.org/0009-0009-2920-4553>



[lady.ponce2018@uteq.edu.ec](mailto:lady.ponce2018@uteq.edu.ec)



Ecuador, Quevedo, Universidad Técnica Estatal de Quevedo.



Rodríguez-Rivera, Roger Steven<sup>3</sup>



<https://orcid.org/0009-0007-3547-9268>



[roger.rodriguez2017@uteq.edu.ec](mailto:roger.rodriguez2017@uteq.edu.ec)



Ecuador, Quevedo, Universidad Técnica Estatal de Quevedo.



Reasco-Tigua, Emily Dayana<sup>4</sup>



<https://orcid.org/0009-0000-8666-653>



[emily.reasco2015@uteq.edu.ec](mailto:emily.reasco2015@uteq.edu.ec)



Ecuador, Quevedo, Universidad Técnica Estatal de Quevedo.



Manrique-Piedra, Kerly Xiomara<sup>5</sup>



<https://orcid.org/0000-0002-0610-5757>



[kerly.manrique2017@uteq.edu.ec](mailto:kerly.manrique2017@uteq.edu.ec)



Ecuador, Quevedo, Universidad Técnica Estatal de Quevedo.

Autor de correspondencia<sup>1</sup>



DOI / URL: <https://doi.org/10.69484/rcz/v5/n1/166>

**Resumen:** Se evaluó el efecto antifúngico in vitro del mucílago de cacao (*Theobroma cacao* L.) sobre *Moniliophthora roreri*, con el propósito de definir condiciones de fermentación y concentración con mayor eficacia. En laboratorio se aplicó un diseño completamente al azar con arreglo factorial, considerando fermentación de 5, 10 y 15 días y concentraciones de 10, 7,5, 5 y 2,5 por ciento, además de un control. La actividad se estimó mediante crecimiento micelial y cambios en la integridad de membrana, usando conductividad eléctrica y absorbancia a 256 nanómetros. El mucílago fermentado 10 y 15 días redujo el crecimiento fúngico y aumentó la permeabilidad celular frente a 5 días, y las concentraciones de 10 y 7,5 por ciento mostraron la mayor respuesta. Los hallazgos sugieren que la fermentación potencia la bioactividad del mucílago y, sin exagerar su alcance, respaldan su uso potencial como alternativa sostenible para el manejo de la moniliasis del cacao en sistemas productivos locales cacaoteros.

**Palabras clave:** permeabilidad, biocontrol, fitopatógeno.



Check for updates

**Recibido:** 24/Dic/2025

**Aceptado:** 18/Ene/2026

**Publicado:** 31/Ene/2026

**Cita:** Ruperty-Parraga, J. E., Ponce-Arévalo, L. D., Rodríguez-Rivera, R. S., Reasco-Tigua, E. D., & Manrique-Piedra, K. X. (2026). Mucílago de cacao como agente antifúngico in vitro frente a *Moniliophthora roreri*. *Revista Científica Zambos*, 5(1), 298-317. <https://doi.org/10.69484/rcz/v5/n1/166>

Ecuador, Santo Domingo, La Concordia  
Universidad Técnica Luis Vargas Torres de  
Esmeraldas – Sede Santo Domingo  
Revista Científica Zambos (RCZ)  
<https://revistaczambos.utelvtsd.edu.ec>

Este artículo es un documento de acceso abierto distribuido bajo los términos y condiciones de la **Licencia Creative Commons, Atribución-  
NoComercial 4.0 Internacional**.



**Abstract:**

The *in vitro* antifungal effect of cocoa mucilage (*Theobroma cacao* L.) on *Moniliophthora roreri* was evaluated in order to define the most effective fermentation conditions and concentrations. A completely randomized design with a factorial arrangement was applied in the laboratory, considering fermentation of 5, 10, and 15 days and concentrations of 10, 7.5, 5, and 2.5 percent, in addition to a control. Activity was estimated by mycelial growth and changes in membrane integrity, using electrical conductivity and absorbance at 256 nanometers. Mucilage fermented for 10 and 15 days reduced fungal growth and increased cell permeability compared to 5 days, and concentrations of 10 and 7.5 percent showed the greatest response. The findings suggest that fermentation enhances the bioactivity of mucilage and, without exaggerating its scope, support its potential use as a sustainable alternative for the management of cocoa moniliasis in local cocoa production systems.

**Keywords:** permeability, biocontrol, phytopathogen.

## 1. Introducción

El cacao (*Theobroma cacao* L.) se considera un rubro estratégico para economías tropicales por su aporte a la seguridad económica rural, la generación de empleo y la sostenibilidad de cadenas agroalimentarias vinculadas a mercados internacionales (Beg et al., 2017; Da Silva et al., 2022). En este contexto, la viabilidad del sistema productivo se condiciona por factores agronómicos y ambientales que definen el rendimiento y la estabilidad del cultivo, especialmente bajo escenarios de intensificación y presión sanitaria (Da Silva et al., 2022).

Entre las principales limitantes fitosanitarias del cacao destaca la moniliasis, enfermedad asociada a *Moniliophthora roreri*, cuyo manejo convencional suele apoyarse en intervenciones químicas y estrategias integradas que combinan alternativas biológicas y químicas, dependiendo del nivel de presión y del tejido susceptible (Bateman et al., 2005). Sin embargo, la sostenibilidad del control químico se cuestiona por el impacto ambiental y sanitario derivado del uso intensivo de plaguicidas, con evidencia de riesgos por contaminación, persistencia y efectos sobre organismos no objetivo, lo que obliga a replantear estrategias compatibles con enfoques de desarrollo sostenible (Maggi et al., 2020; Sharma et al., 2020; Tudi et al., 2021; Nurika et al., 2022).

En línea con ese desafío, los subproductos del propio sistema cacaotero se exploran como fuentes funcionales para bioproductos. El mucílago de cacao se describe como una matriz con potencial bioactivo para formulaciones ecológicas, particularmente cuando se combina con ácidos débiles en propuestas bioantimicrobianas, lo que respalda su interés como alternativa de menor impacto (Moreno et al., 2021). Además,

se reconoce que la fermentación puede modificar la bioactividad de matrices ricas en polifenoles y otros metabolitos, alterando su perfil químico y, con ello, su potencial funcional (Yang et al., 2023). En el caso específico del cacao, la dinámica fermentativa se asocia a cambios que inciden sobre atributos de calidad y composición, lo que refuerza la plausibilidad de un efecto dependiente del tiempo de fermentación sobre la actividad biológica (Calvo et al., 2021). Bajo este marco, también se ha reportado el potencial del mucílago como agente de control biológico contra *Moniliophthora* en sistemas de cultivo de cacao, lo que sustenta la pertinencia de evaluar su eficacia bajo condiciones controladas (Gutiérrez et al., 2021).

En función de lo anterior, el objetivo principal del presente estudio es evaluar el efecto antifúngico in vitro del mucílago de cacao sobre *Moniliophthora roreri*, considerando el tiempo de fermentación y la concentración del mucílago como factores determinantes de su actividad biológica.

## 2. Metodología

La investigación se realizó en el laboratorio de bromatología del campus La María de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo, ubicado en el km 7 ½ de la vía Quevedo–El Empalme, recinto San Felipe, cantón Mocache, provincia de Los Ríos, Ecuador (1° 3' 18" S; 79° 25' 24" O; 77,60 m s. n. m.), en una zona de clima tropical húmedo con temperatura media anual de 25,4 °C y precipitación media anual de 3029,30 mm. El estudio fue de carácter experimental bajo condiciones de laboratorio y se estructuró mediante un diseño completamente al azar con arreglo factorial A×B, donde el factor A correspondió al tiempo de fermentación del mucílago (5, 10 y 15 días) y el factor B a la concentración (10 %, 7,5 %, 5 %, 2,5 % y control), conformándose 15 tratamientos con 3 repeticiones cada uno.

Las mazorcas de cacao se recolectaron manualmente en madurez fisiológica y se trasladaron al laboratorio para extraer las semillas recubiertas de mucílago. El mucílago se obtuvo por decantación gravitacional en un recipiente de vidrio con orificio basal, recolectándose conforme goteó durante 3 días. Posteriormente, el mucílago se fermentó en envases de vidrio estériles por 5, 10 y 15 días y, al finalizar cada periodo, se filtró mediante un filtro de 45 µm para retirar impurezas y emplearse en los ensayos.

La cepa de *Moniliophthora roreri* se obtuvo a partir de una mazorca con síntomas de moniliasis, aislándose el fitopatógeno en medio Papa Dextrosa Agar preparado con 39 g L<sup>-1</sup>, esterilizado en autoclave a 121 °C durante 15 min y solidificado en cajas Petri estériles. Las cajas inoculadas se incubaron a 28 °C durante 22 días y se realizaron subcultivos para purificar el aislado.

Para cuantificar la inhibición del crecimiento, el mucílago se incorporó al medio Papa Dextrosa Agar esterilizado una vez enfriado a 45 °C, se inoculó el centro de cada placa con un disco de 5 mm de micelio fresco y se incubó a 25 °C en oscuridad. El crecimiento se determinó midiendo el diámetro radial medio a partir de dos diámetros

perpendiculares y el porcentaje de inhibición se calculó como: % Inhibición =  $[(\text{Crecimiento del control} - \text{Crecimiento del tratamiento}) / \text{Crecimiento del control}] \times 100$ .

La inhibición de esporulación se evaluó adicionando 10 mL de agua destilada estéril con 0,01 % de Tween 20, desprendiendo el micelio con asa de Drigalsky, filtrando la suspensión y cuantificando las esporas en cámara de Neubauer bajo microscopio. La reducción de esporulación se estimó mediante la expresión: % Esporulación =  $[(\text{Número de esporas control} - \text{Número de esporas tratamiento}) / \text{Número de esporas control}] \times 100$ .

El pH del mucílago fermentado se midió a los 5, 10 y 15 días con potenciómetro calibrado con soluciones tampón de pH 4, 7 y 10, verificándose con tiras indicadoras y registrándose por triplicado. La biomasa fúngica se determinó disolviendo el medio de una placa en agua destilada, filtrando con papel Whatman N.º 1, secando el micelio a 60 °C durante 48 h y pesándolo en balanza de precisión, estimándose el peso seco por diferencia.

Para analizar el daño de membrana, fragmentos miceliales se cultivaron en 50 mL de caldo Papa Dextrosa a 25 °C con agitación por 48 h, se filtraron y resuspendieron en agua destilada estéril con mucílago a 0, 1,25, 2,5, 3,75 y 5,0  $\mu\text{L mL}^{-1}$ . La conductividad se registró a 0, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 80, 100 y 120 min, determinándose una conductividad final tras ebullición, y la conductividad relativa se calculó como: Conductividad eléctrica relativa (%) =  $(\text{Conductividad eléctrica} / \text{Conductividad eléctrica final}) \times 100$ .

La viabilidad celular se evaluó incubando tapones miceliales en caldo Papa Dextrosa, adicionando mucílago a las mismas concentraciones y tiñendo con 1  $\mu\text{L}$  de azul de tripano al 0,4 % para observación microscópica, repitiéndose cada ensayo tres veces. La fuga intracelular se estimó cultivando micelio en 100 mL de caldo Papa Dextrosa por 48 h a 25 °C, lavando y resuspendiendo en agua estéril con mucílago, recolectando sobrenadantes a 0, 2, 4, 6, 8, 10 y 12 h y cuantificando liberación de ADN por absorbancia a 260 nm.

Los datos se sometieron a análisis de varianza para efectos principales e interacción, verificándose normalidad con Shapiro–Wilk y homogeneidad con Levene. Cuando se cumplieron los supuestos, la comparación de medias se realizó con Tukey a un nivel de significancia de 0,05. Adicionalmente, se ajustaron modelos de superficie de respuesta de segundo orden con la función `rsm()` en R, se generaron superficies y contornos, y se efectuó correlación de Pearson representada mediante mapas de calor jerarquizados, realizándose el procesamiento en RStudio bajo R.

### 3. Resultados

#### 3.1. Caracterización morfológica de *M. roreri*.

Las colonias del fitopatógeno cultivadas en medio PDA a 25 °C mostraron un desarrollo morfológico progresivo. A los 5 días se observó un micelio filamentososo inicial de 5–10 mm, blanco lechoso, con manto algodonoso y bordes ligeramente lobulados, alcanzando 30–35 mm. Entre los días 5 y 10 el micelio se engrosó y el centro adquirió tonalidades crema a ámbar, con crecimiento de 65–70 mm, esporulación incipiente y márgenes ondulados definidos. Al día 15 el crecimiento radial cubrió la placa (90–95 mm), con textura cotonosa aterciopelada, coloración de gris parduzco a marrón claro, márgenes convexo-ondulados y reverso marrón claro, evidenciando máxima esporulación y maduración micelial. Estos cambios reflejaron la transición fisiológica del patógeno hacia estructuras reproductivas en el cultivo (Tabla 1, Figura 1).

**Tabla 1**

*Morfología de M. roreri s observados después de 5, 10 y 15 días de incubación*

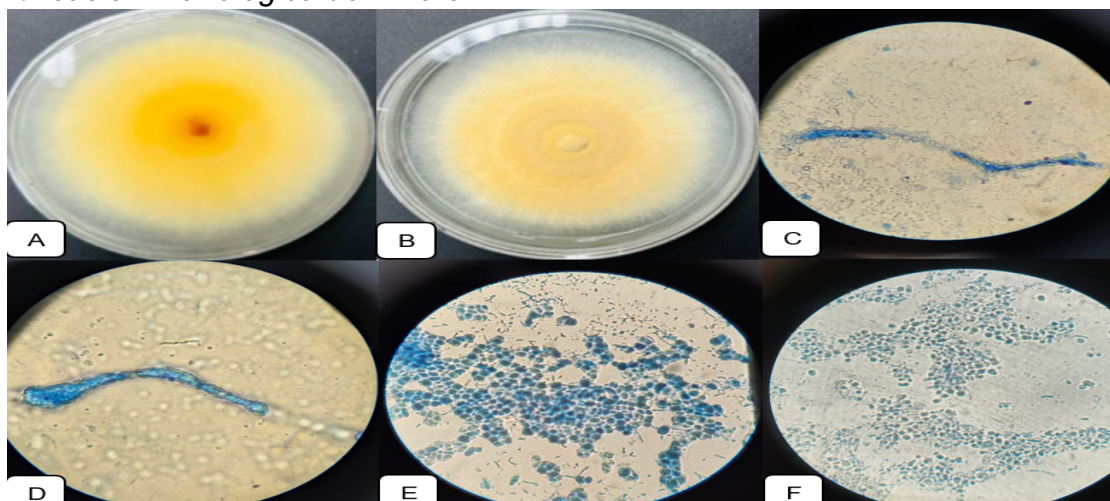
Aislamiento	Diámetro (mm) <sup>1</sup>	Aspecto de la superficie	Color suprayacente	Margen	Color reverso	Observaciones adicionales
H805 <i>Moniliothora</i> <i>spp.</i>	5,33	Micelio denso, cotonato, aterciopelado.	Gris parduzco a marrón claro	Margen ondulado, convexo	Marrón claro.	Cobertura completa, esporulación máxima.

*Nota:* Diámetro medido en cajas de Petri (90 mm) a 25 °C sobre medio PDA (Autores, 2026).

La figura 1 muestra las estructuras morfológicas características de *M. roreri*, incluyendo la morfología colonial desarrollada en medio de cultivo PDA tras 15 días de incubación, así como las estructuras reproductivas observadas mediante tinción con azul de tripano al 0,4 %.

**Figura 1**

*Identificación morfológica de M roreri*

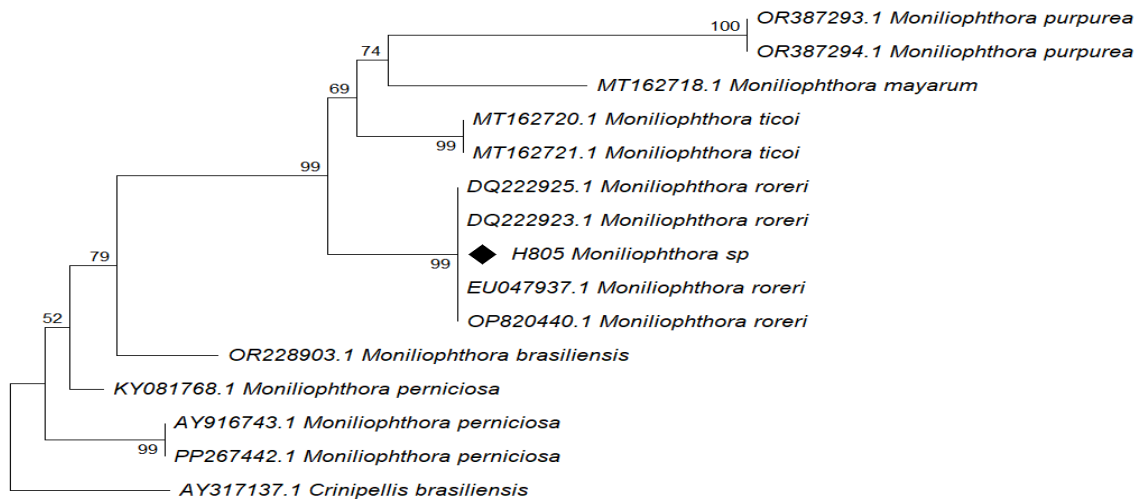


*Nota:* Estructuras morfológicas de *M. roreri* observados mediante microscopía óptica (barra de escala: 50 µm, aumento 400×). (A y B) Morfología colonial en medio PDA tras 15 días de incubación a temperatura ambiente (25 °C); (C, D y E) Conidios de *M. roreri* teñidos con azul de tripano al 0,4 %; (F) Hifas septadas de *M. roreri* (Autores, 2026).

### 3.2. Identificación molecular y análisis filogenético.

El aislado H805, identificado con un diamante negro, se ubicó dentro del clado de *Moniliophthora roreri* con alto soporte estadístico (bootstrap = 99 %), confirmando su identidad. En la Figura 2 se observa su estrecha relación con secuencias de referencia de GenBank (DQ222925.1, DQ222923.1, EU047937.1 y OP820440.1), lo que evidencia afinidad genética consistente. El árbol separó adecuadamente especies del género como *M. purpurea*, *M. mayarum*, *M. ticoi*, *M. brasiliensis* y *M. perniciosa*. Se utilizó AY317137.1 (*Crinipellis brasiliensis*) como grupo externo.

**Figura 2**  
Análisis filogenético de cepas del género *M. roreri* basado en la región ITS

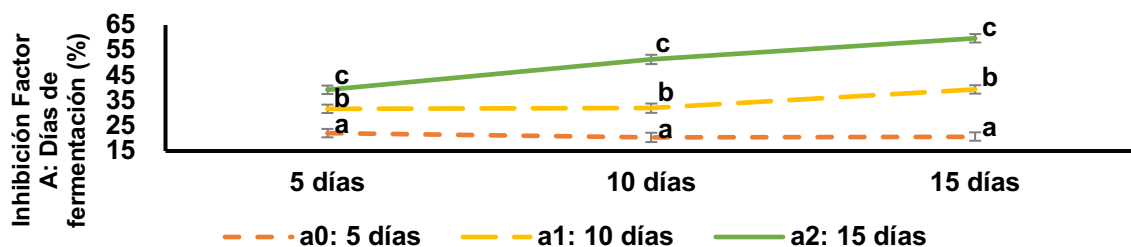


Nota: (Autores, 2026).

### 3.3. Porcentaje de inhibición.

El tiempo de fermentación del mucílago (factor A) modificó significativamente la inhibición de *M. roreri* ( $p < 0,05$ ). A los 15 días de evaluación, el mucílago fermentado 15 días alcanzó 59,75 %, superando a 10 días (39,45 %) y 5 días (20,75 %), con diferencias entre tratamientos, y evidenció incrementos consistentes conforme el mucílago maduró. En la medición inicial a los 5 días, la inhibición fue 39,30 % (15 días), 31,75 % (10 días) y 22,10 % (5 días), siendo este último el menor. Así, la fermentación prolongada potenció el efecto en general (Figura 3).

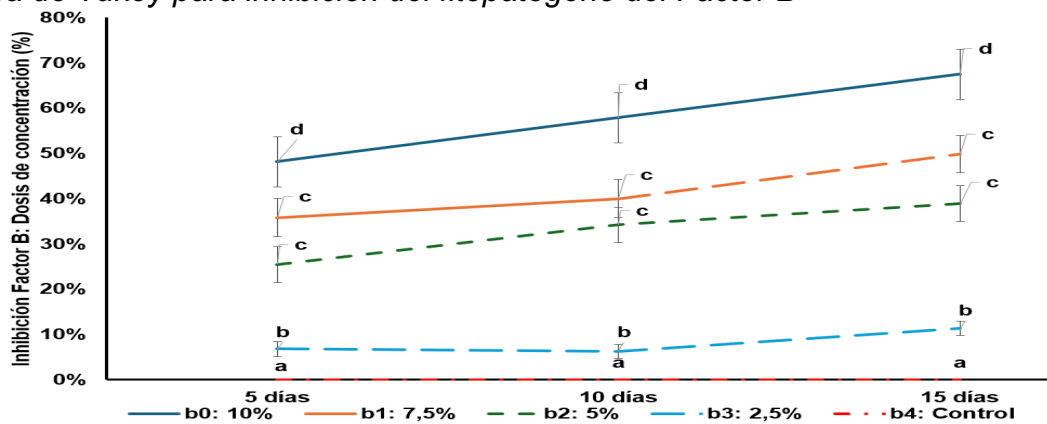
**Figura 3**  
Prueba de Tukey para inhibición del fitopatógeno del Factor A



Nota: Letras diferentes evidencian diferencias significativas ( $P < 0,05$ ) entre tratamientos.  $\pm$  Desviación estándar (Autores, 2026).

Respecto al Factor B: concentración del mucílago, el tratamiento b0 (10 %) alcanzó el mayor porcentaje de inhibición a los 15 días (67,46 %), seguido por b1 (49,86 %), b2 (38,90 %), b3 (11,33 %) y el control (0,00 %), con diferencias significativas entre cada concentración ( $p < 0,05$ ). En la evaluación a los 5 días, el tratamiento control registró la inhibición más baja (0,00 %), seguido de los tratamientos b0, b1, b2 y b3 con resultados de 48,13 %; 35,80 %; 25,46 % y 6,80 % respectivamente; confirmando que la eficacia inhibitoria del mucílago crece de forma dependiente de la concentración ( $p < 0,05$ ) (Figura 4).

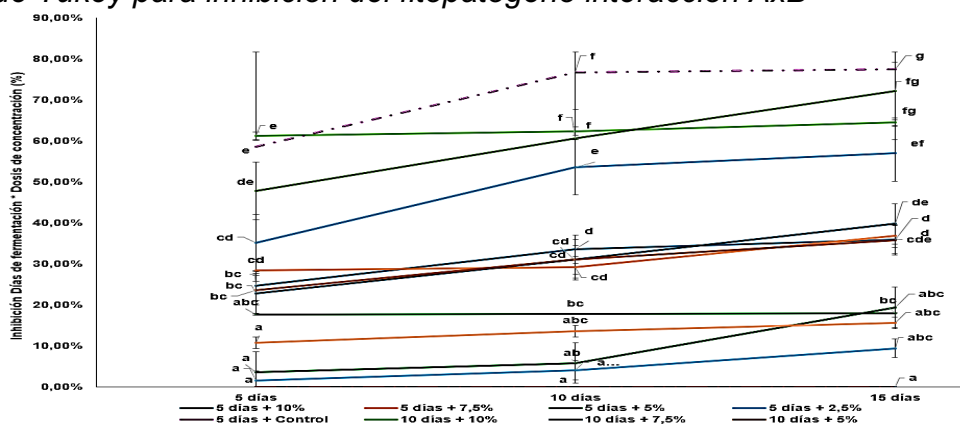
**Figura 4**  
Prueba de Tukey para inhibición del fitopatógeno del Factor B



Nota: Letras diferentes evidencian diferencias significativas ( $P < 0,05$ ) entre tratamientos.  $\pm$  Desviación estándar (Autores, 2026).

El análisis de interacción entre el tiempo de fermentación (factor A) y la concentración de mucílago (factor B) mostró diferencias significativas en la inhibición de *M. roleri*, confirmando que ambos determinan la actividad antifúngica. La mayor inhibición se obtuvo con 15 días de fermentación y 10 % de mucílago (a2b0), alcanzando 86,00 % a los 15 días de evaluación y 77,60 % a los 10 días. En contraste, combinaciones de 5 días y 2,5 % presentaron inhibiciones mínimas, inferiores a 4,00 %, evidenciando la relevancia conjunta de dosis y fermentación para el biocontrol (Figura 5).

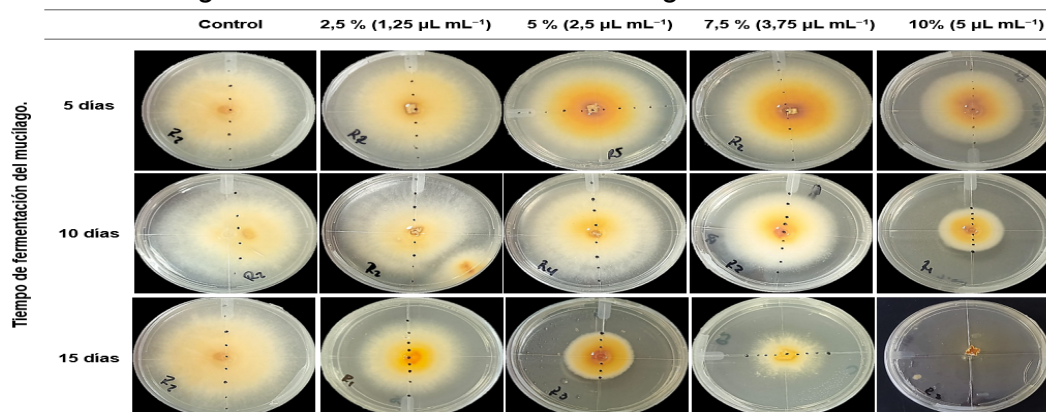
**Figura 5**  
Prueba de Tukey para inhibición del fitopatógeno interacción Ax B



Nota: Letras diferentes evidencian diferencias significativas ( $P < 0,05$ ) entre tratamientos.  $\pm$  Desviación estándar (Autores, 2026).

Se presentan cajas Petri con medio PDA inoculadas con el fitopatógeno y tratadas con mucílago fermentado en concentraciones de 2,5 %, 5,0 %, 7,5 % y 10 %, evaluadas a 5, 10 y 15 días de fermentación. El control corresponde al crecimiento sin mucílago. Se evidenció una inhibición del micelio dependiente de la concentración y del tiempo, destacándose mayor restricción del crecimiento con fermentaciones de 10 a 15 días y concentraciones intermedias de 5,0 % y 7,5 % (Figura 6).

**Figura 6**  
*Evaluación morfológica del efecto in vitro del mucílago de cacao sobre M. roleri.*



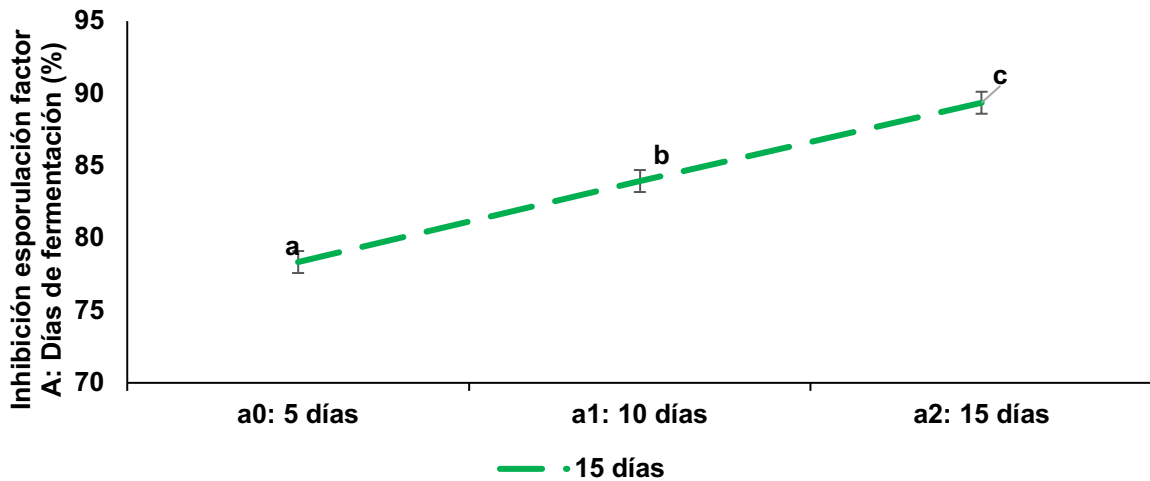
Nota: Aplicación de mucílago de cacao en  $\mu\text{L mL}^{-1}$  (Autores, 2026).

### 3.4. Porcentaje de esporulación.

Los resultados obtenidos para esta variable evidencian que la actividad antifúngica del mucílago de cacao, medida a través del porcentaje de inhibición de la esporulación, se ve significativamente influenciada por el Factor A: días de fermentación del mucílago. En la figura 7 se muestra, que el tratamiento con 15 días de fermentación presentó el mayor porcentaje de inhibición (89,36 %), seguido por los tratamientos de 10 días (83,95 %) y 5 días (78,35 %). De acuerdo con el análisis estadístico, el tratamiento a los 15 días de fermentación difirió significativamente, lo que indica que un mayor tiempo de fermentación incrementa la eficacia antifúngica del mucílago sobre la esporulación del fitopatógeno.

**Figura 7**

Efecto del número de días de fermentación del mucílago de cacao (Factor A) sobre la inhibición de la esporulación de *M. royeri*, evaluada a los 15 días del experimento

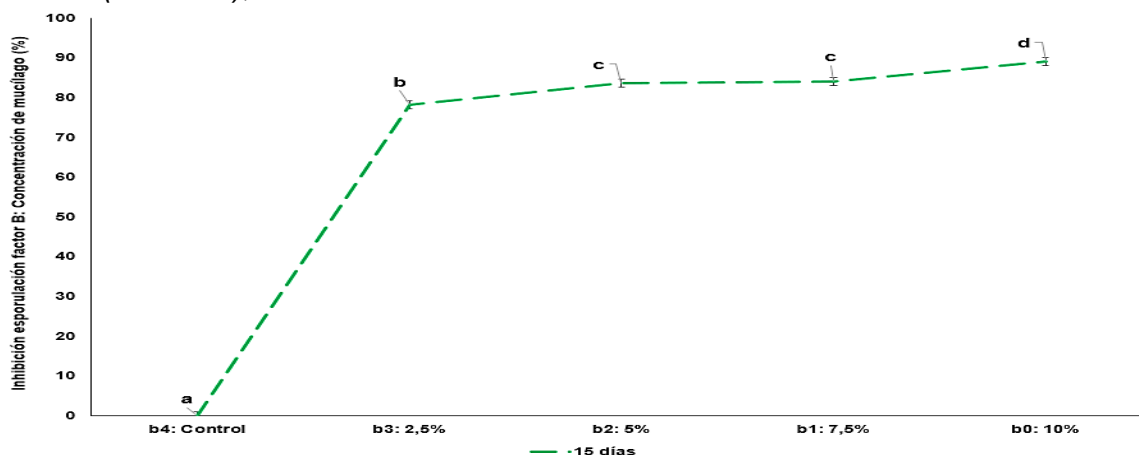


Nota: Letras diferentes evidencian diferencias significativas ( $P < 0,05$ ) entre tratamientos.  $\pm$  Desviación estándar (Autores, 2026).

Como se muestra en la figura 8, el factor B: concentración del mucílago de cacao, influye significativamente en la inhibición de la esporulación de *M. royeri*. A los 15 días de fermentación, se observó un incremento progresivo en el porcentaje de inhibición conforme aumentó la concentración del mucílago. El tratamiento con 10 % de mucílago presentó la mayor inhibición esporulativa (89,02 %), con diferencias estadísticamente significativas frente a los tratamientos con bajas concentraciones. Esto evidencia que una mayor concentración del mucílago potencia su actividad antifúngica, especialmente en etapas críticas del ciclo del fitopatógeno como la esporulación.

**Figura 8**

Inhibición de la esporulación de *M. royeri* en función de la concentración del mucílago de cacao (Factor B), evaluada a los 15 días de fermentación

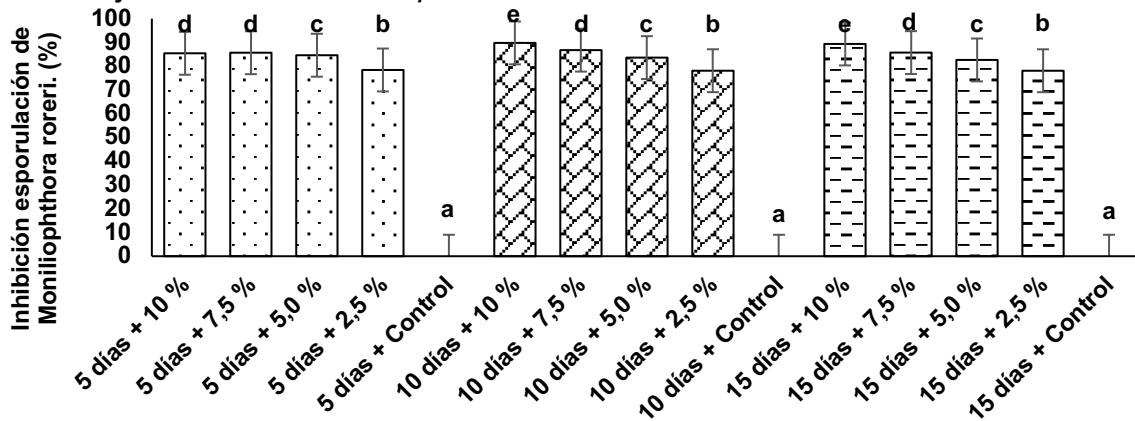


Nota: Letras diferentes evidencian diferencias significativas ( $P < 0,05$ ) entre tratamientos.  $\pm$  Desviación estándar (Autores, 2026).

Los resultados obtenidos para esta variable evidencian que la actividad antifúngica del mucílago de cacao se ve significativamente influenciada por el tiempo de fermentación

y la concentración aplicada. Las combinaciones que presentaron mayor inhibición de esporulación fueron los tratamientos (a1b0: 10 días + 10 % y a2b0: 15 días + 10 %), alcanzando niveles altos de inhibición de esporulación, con valores de 89,80 % y 89,60 % respectivamente, figura 9. Los tratamientos con menor concentración del mucílago con 2,5 % independientemente del tiempo de fermentación (a0b3, a1b3 y a2b3), presentaron porcentajes bajos de inhibición, con valores cercanos al 3 %.

**Figura 9**  
Porcentaje de inhibición de esporulación de *M. royeri*

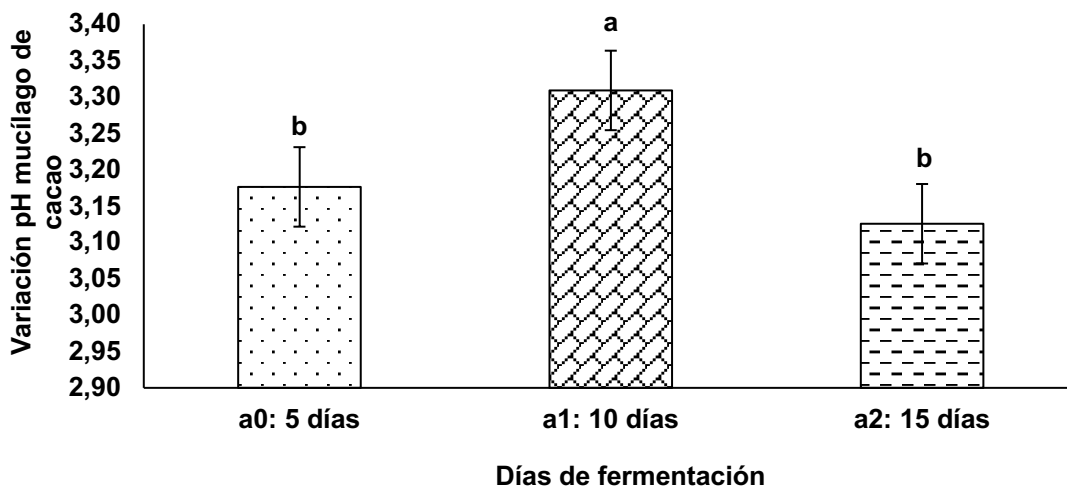


Nota: Letras diferentes evidencian diferencias significativas ( $P < 0,05$ ) entre tratamientos.  $\pm$  Desviación estándar (Autores, 2026).

### 3.3.1. pH del mucílago a diferentes días de fermentación

Los valores de pH del mucílago de cacao mostraron variaciones significativas en función del tiempo de fermentación. En la figura 10 se muestra, que, a los 10 días de fermentación, se registró el valor mayor con un pH de 3,31, lo que indica una ligera disminución en la acidez en comparación con los otros tratamientos. Por el contrario, tanto a los 5 como a los 15 días de fermentación, el pH fue menor, con valores de 3,18 y 3,13, respectivamente.

**Figura 10**  
Variación del pH del mucílago del cacao según los días de fermentación



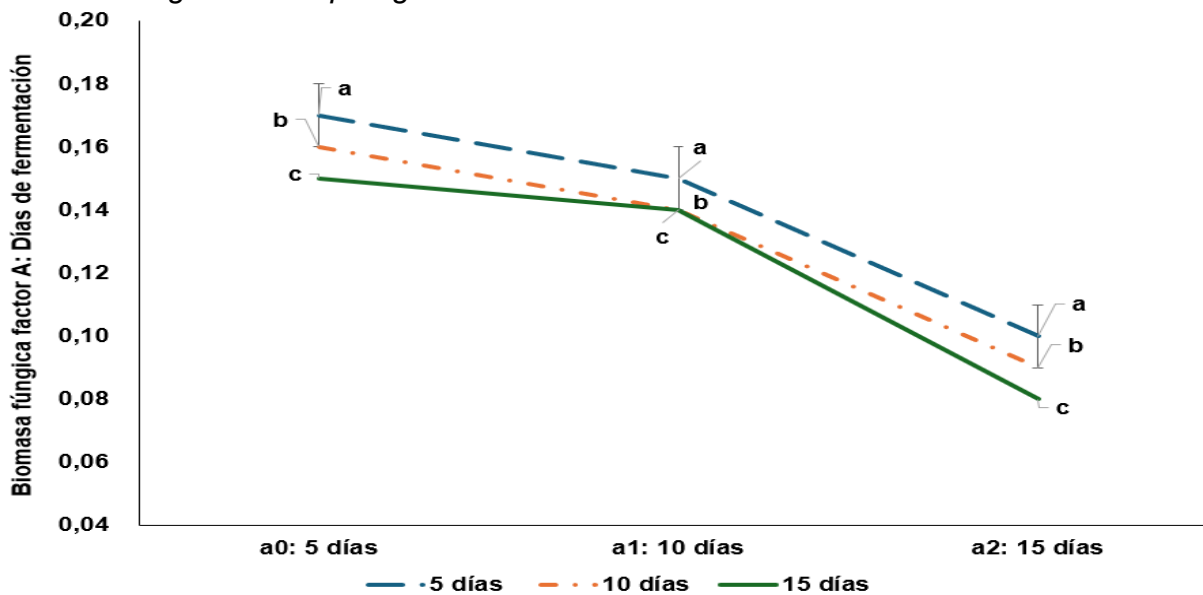
Nota: Letras diferentes evidencian diferencias significativas ( $P < 0,05$ ) entre tratamientos.  $\pm$  Desviación estándar (Autores, 2026).

### 3.3.2. Biomasa fúngica

Como se muestra en la figura 11, los resultados muestran que la biomasa fúngica del fitopatógeno se vio significativamente influenciada por el factor A: días de fermentación del mucílago de cacao. Se observó una tendencia decreciente en la biomasa fúngica conforme aumentaron los días de fermentación, lo que indica un efecto antifúngico más pronunciado en tratamientos más prolongados. En el tratamiento 15 días de fermentación se registraron valores inferiores (0,10; 0,09; 0,08), seguidos por los 10 días (0,15; 0,14; 0,14) y finalmente el tratamiento a los 5 días con valores superiores (0,17; 0,16; 0,15); estas diferencias entre días son estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ), los resultados indican que prolongar la fermentación del mucílago reduce de manera creciente y significativa la biomasa de *M. royeri*.

**Figura 11**

*Efecto del número de días de fermentación del mucílago de cacao (Factor A) sobre la biomasa fúngica del fitopatógeno.*

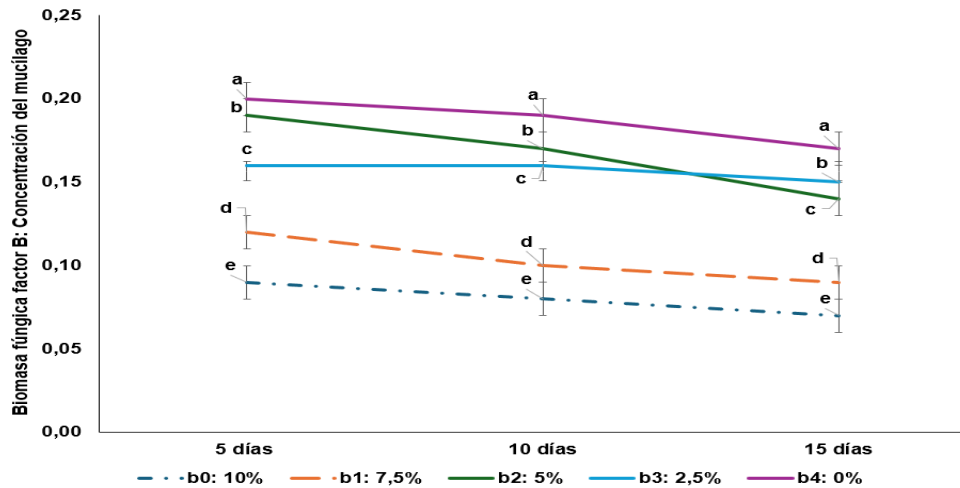


*Nota:* Letras diferentes evidencian diferencias significativas ( $P < 0,05$ ) entre tratamientos.  $\pm$  Desviación estándar (Autores, 2026).

Para el factor B: concentración de mucílago, figura 12; se evidenció una disminución progresiva de la biomasa al aumentar la concentración del mucílago, especialmente en los tratamientos con 7,5 % y 10 % de concentración del mucílago. El experimento a los 5, 10 y 15 días, con una concentración de 10 % de mucílago se observaron resultados inferiores de biomasa fúngica (0,09; 0,08; y 0,07 respectivamente); mientras que el tratamiento control sin mucílago registró valores de biomasa superiores (0,20; 0,19 y 0,17). Esto confirma que a mayor concentración de mucílago corresponde una reducción progresiva y consistente de la biomasa del fitopatógeno.

**Figura 12**

*Efecto de la concentración del mucílago (Factor B) sobre la biomasa fúngica del fitopatógeno*

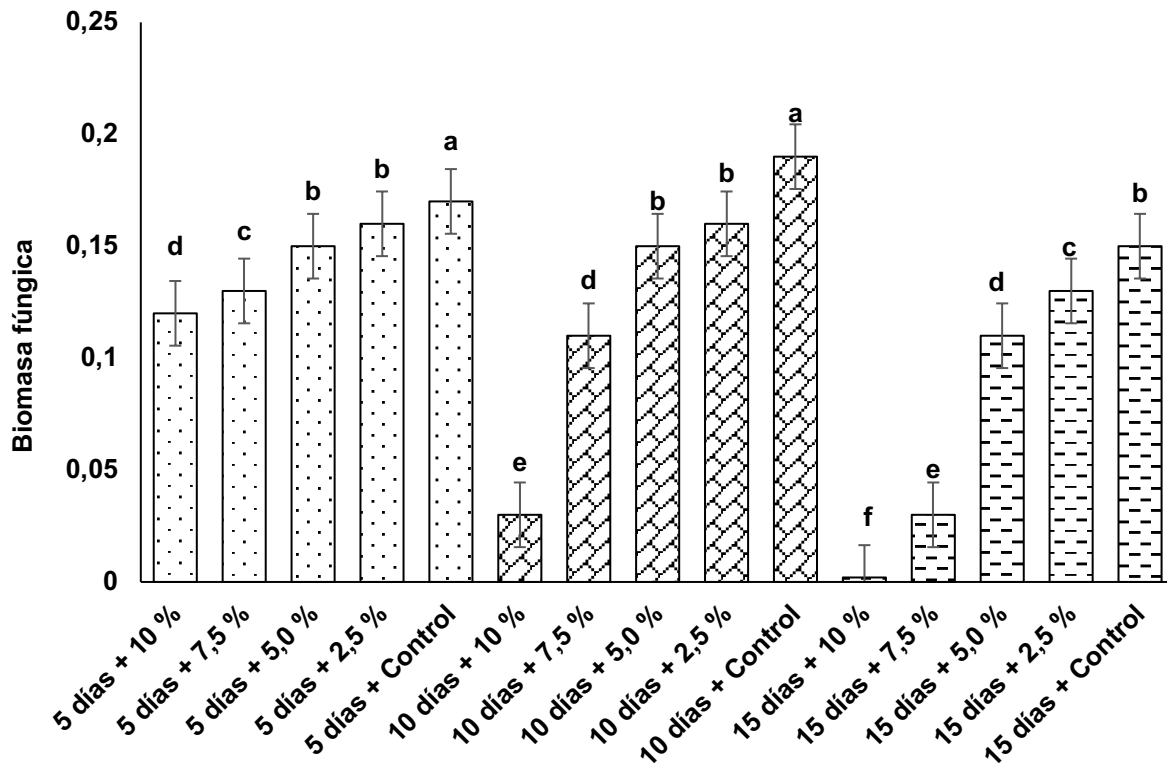


*Nota:* Letras diferentes evidencian diferencias significativas ( $P < 0,05$ ) entre tratamientos.  $\pm$  Desviación estándar (Autores, 2026).

Los resultados, presentados en la figura 13, evidencian que la biomasa fúngica del fitopatógeno presentó variaciones significativas en función de los tratamientos evaluados. Se observó que los valores inferiores de biomasa fúngica se registraron en el tratamiento correspondiente a 15 días de fermentación y 10 % de concentración de mucílago (a2b0), con un valor promedio de 0,002 g, evidenciando una marcada inhibición del crecimiento fúngico en comparación con los demás tratamientos. De forma similar, el tratamiento a 15 días de fermentación con 7,5 % de concentración (a2b1) también presentó una baja biomasa (0,03 g), siendo estadísticamente diferente de la mayoría de los tratamientos con 5 y 10 días de fermentación. Por el contrario, los tratamientos con 5 y 10 días de fermentación, en combinación con concentraciones bajas entre 2,5 % y 0 % de mucílago, registraron las biomásas fúngicas más elevadas, alcanzando hasta 0,19 g en el tratamiento con 10 días de fermentación y 0 % de mucílago.

Estos resultados indican que tanto el tiempo de fermentación del mucílago como su concentración tienen un efecto significativo en la reducción del crecimiento de *M. roreri*, siendo los tratamientos con mayor tiempo de fermentación y concentración de mucílago los más efectivos en inhibir su desarrollo.

**Figura 13**  
Evaluación de la biomasa fúngica del fitopatógeno.



Nota: Letras diferentes evidencian diferencias significativas ( $P < 0,05$ ).  $\pm$  Desviación estándar (Autores, 2026).

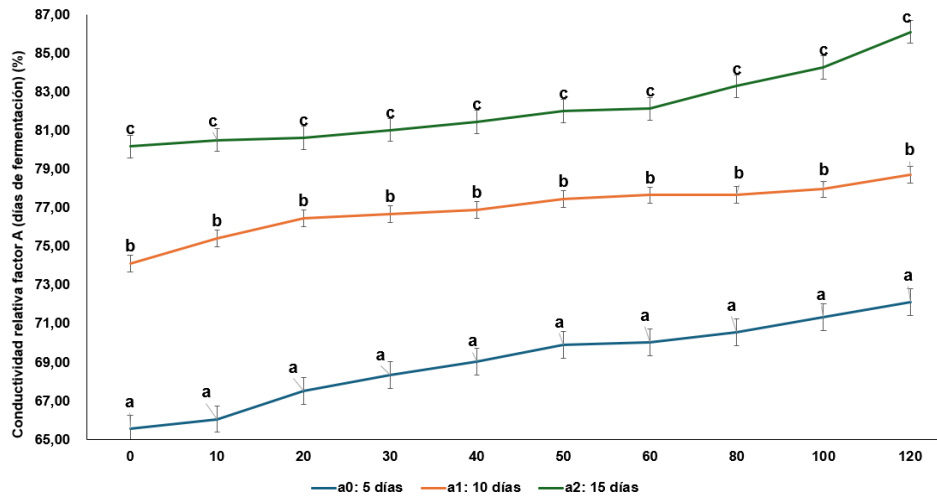
### 3.3.3. Absorbancia de conductividad eléctrica

En la figura 14, se muestran los resultados de la conductividad eléctrica, los cuales evidenciaron un aumento progresivo en función al Factor A: días de fermentación del mucílago, reflejando una mayor liberación de compuestos iónicos en el medio. El tratamiento con 15 días de fermentación se observó con valores altos en todos los tiempos de medición, iniciando con un valor de 80,18 % y alcanzando un máximo de 86,11 % al final del periodo. Le siguió el tratamiento con 10 días de fermentación, con valores entre 74,12 % y 78,72 %, mientras que el tratamiento con 5 días registró valores bajos, desde 65,57 % hasta 72,13 %.

Este patrón indica que la fermentación más prolongada favorece una mayor acumulación de metabolitos solubles, como ácidos orgánicos, péptidos y sales, que contribuyen al aumento de la conductividad. Por lo tanto, la conductividad eléctrica se presenta como un indicador fiable del avance del proceso fermentativo y está asociada con el incremento en la actividad antifúngica observada en los tratamientos con mayor tiempo de fermentación.

**Figura 14**

*Efecto de los días de fermentación de mucílago de cacao (Factor A) sobre la conductividad relativa de M. roleri durante 120 min de incubación*

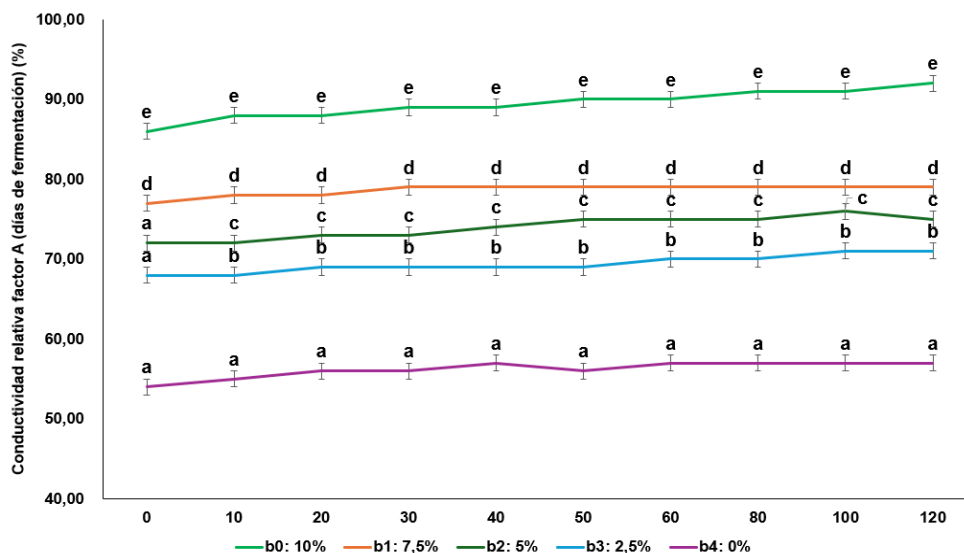


*Nota:* Letras diferentes evidencian diferencias significativas ( $P < 0,05$ ).  $\pm$  Desviación estándar (Autores, 2026).

En la Figura 15 se evidencian diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ) entre las concentraciones de mucílago evaluadas en relación con el crecimiento de *M. roleri*. A lo largo del periodo de evaluación, el tratamiento con 10 % de mucílago registró el mayor crecimiento micelial, seguido por las concentraciones de 7,5 %, 5 % y 2,5 %. El tratamiento control sin mucílago presentó consistentemente valores bajos en todos los tiempos de medición. Cada tratamiento mostró diferencias significativas respecto al siguiente en orden creciente. Este comportamiento evidencia un efecto dependiente de la dosis sobre la permeabilidad del micelio y respalda la acción antifúngica del mucílago fermentado.

**Figura 15**

*Efecto de la concentración de mucílago de cacao (Factor B) sobre la conductividad relativa de M. roleri durante 120 min de incubación*



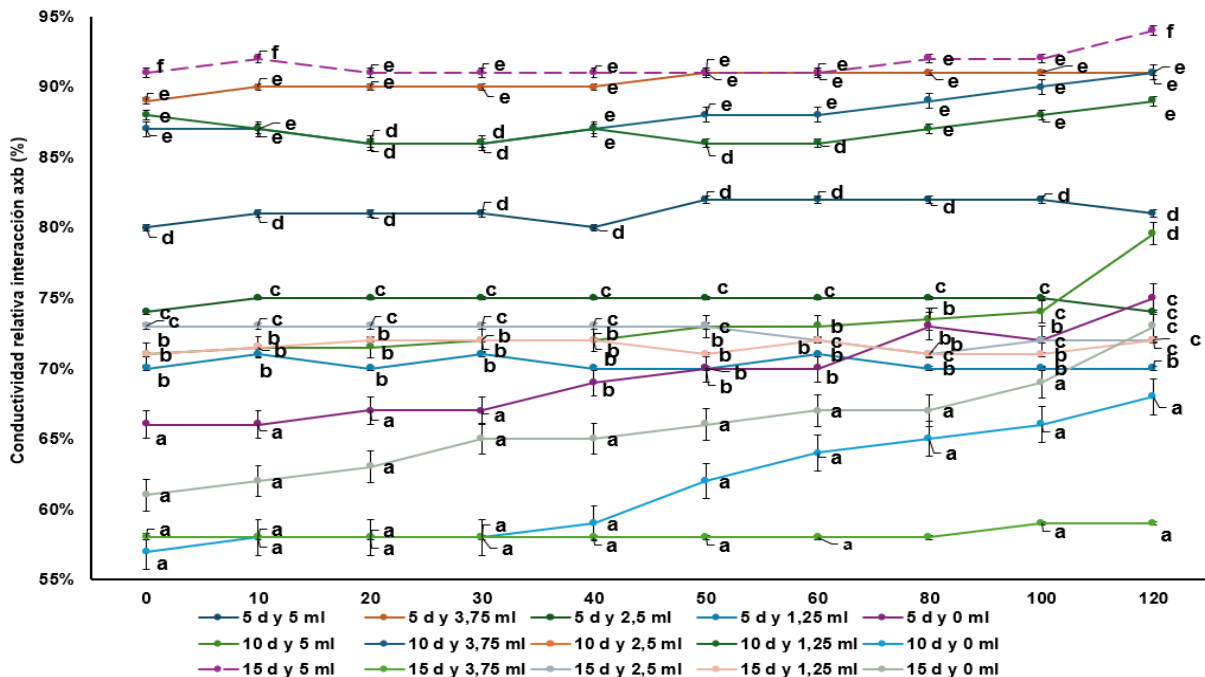
*Nota:* Letras diferentes evidencian diferencias significativas ( $P < 0,05$ ).  $\pm$  Desviación estándar (Autores, 2026).

Los resultados de la interacción evidencian diferencias estadísticamente significativas con un nivel de confianza ( $p < 0,05$ ) entre los tratamientos combinados de tiempo de fermentación y concentración de mucílago aplicado durante el ensayo in vitro, como se muestra en la figura 16. A lo largo del periodo de evaluación, el tratamiento con 15 días de fermentación y 10 % de mucílago demostró consistentemente valores altos de conductividad eléctrica, alcanzando un 94,00 % a las 120 min y manteniéndose dentro del grupo estadísticamente superior desde las primeras mediciones. Este tratamiento superó significativamente a la mayoría de las combinaciones evaluadas.

En efectividad le siguieron los tratamientos con 7,5 % de mucílago fermentado durante 10 y 5 días, ambos alcanzando un 91,00 % de conductividad eléctrica, reforzando la importancia tanto del volumen aplicado como del tiempo de fermentación. Por otro lado, los valores más bajos de conductividad eléctrica se observaron en el tratamiento sin mucílago y aquellos con concentraciones bajas, entre 2,5 % y 5 %, particularmente cuando se combinaron con 15 días de fermentación. En este grupo, el tratamiento con 5 días y 7,5 % alcanzó solo un 59,00 %, valor estadísticamente inferior al resto de tratamientos. Estos resultados indican que, aunque el tiempo de fermentación es un factor clave, una concentración de mucílago insuficiente limita significativamente el incremento en la conductividad eléctrica asociado con la liberación de metabolitos iónicos y compuestos solubles generados durante el proceso fermentativo.

**Figura 16**

*Efecto del mucílago de cacao sobre la permeabilidad de la membrana plasmática de M. royeri evaluado durante 120 min mediante conductividad eléctrica relativa*



Nota: Letras diferentes evidencian diferencias significativas ( $P < 0,05$ ).  $\pm$  Desviación estándar (Autores, 2026).

Estos resultados se complementan con la observación mediante tinción con azul de tripano al 4 %, donde la colonia del fitopatógeno expuesta a concentraciones altas de mucílago (3,75 y 5,0  $\mu\text{L mL}^{-1}$ ) y fermentación intermedia (5 y 10 días) mostraron una

mayor proporción de células teñidas, indicativo de daño y muerte celular; mientras que, el tratamiento control presentó un número mínimo de células teñidas, confirmando la correlación entre la conductividad eléctrica y la pérdida de viabilidad celular.

#### 4. Discusión

La caracterización morfológica del fitopatógeno en medio PDA evidencia un patrón colonial compatible con *M. royeri*, con micelio algodonoso, progresión de coloración y alta esporulación hacia los 15 días, lo que coincide con descripciones taxonómicas reportadas para aislamientos asociados a moniliasis bajo condiciones controladas (García, 2021). La transición de blanco lechoso a tonalidades gris parduzco y marrón claro sugiere un proceso de maduración micelial y diferenciación reproductiva, consistente con la biología del patógeno. Este comportamiento resulta relevante porque establece un punto de partida confiable para interpretar los bioensayos: el aislamiento expresa rasgos morfológicos esperables del agente causal y, por tanto, la respuesta al mucílago puede discutirse con mayor validez. En esa misma línea, los cambios estructurales observados en tratamientos sometidos a estrés se interpretan como respuestas adaptativas que, aunque pueden fortalecer la pared celular, tienden a comprometer la tasa de crecimiento y la acumulación de biomasa, como se ha descrito para fitopatógenos expuestos a condiciones químicas desfavorables (Pérez-Bustamante y López, 2022).

La identificación molecular y el análisis filogenético confirmaron la identidad del aislado y fortalecieron la validez experimental del estudio, al sustentar la asignación taxonómica mediante marcadores moleculares y soporte estadístico en el agrupamiento, lo que es coherente con criterios empleados para *Moniliophthora* y reduce el riesgo de sesgos por contaminación o asignación errónea en hongos filamentosos (Aime & Phillips-Mora, 2005; Vélez et al., 2023). Asimismo, la afinidad con secuencias de referencia y la separación respecto a especies cercanas aporta consistencia biológica al material evaluado, aspecto relevante al considerar que la variabilidad genética puede relacionarse con diferencias en comportamiento y respuesta a medidas de manejo (Rojas et al., 2021; Barsottini et al., 2023).

En cuanto al desempeño antifúngico, la inhibición del crecimiento micelial mostró un patrón dependiente del tiempo de fermentación y de la concentración del mucílago, con incrementos consistentes cuando ambos factores se optimizan. Este comportamiento se alinea con la evidencia de que la fermentación transforma matrices vegetales y potencia su bioactividad al modificar el perfil químico y la disponibilidad de compuestos con potencial antimicrobiano, particularmente fracciones fenólicas y metabolitos orgánicos derivados del proceso fermentativo (Calvo et al., 2021; Yang et al., 2023). En este marco, la mayor eficacia obtenida en fermentaciones prolongadas es consistente con estudios que atribuyen el aumento de la actividad biológica a

cambios metabólicos inducidos durante la fermentación y a la acumulación de compuestos funcionales en la matriz fermentada (Wang et al., 2022).

De forma complementaria, el efecto dosis-dependiente observado concuerda con el planteamiento de que concentraciones bajas pueden no alcanzar niveles efectivos de compuestos activos para ejercer inhibición marcada, fenómeno descrito para antimicrobianos naturales en sistemas complejos (Tiwari et al., 2009). Desde una perspectiva aplicada, la interacción entre fermentación y concentración adquiere relevancia porque permite identificar combinaciones con mayor eficiencia inhibitoria, contribuyendo a criterios técnicos para una eventual estandarización del bioproducto.

La reducción de la esporulación observada en los tratamientos más efectivos aporta un componente epidemiológico clave, ya que limitar la producción de propágulos puede disminuir el potencial de dispersión del patógeno. Se ha descrito que compuestos fenólicos y ácidos orgánicos interfieren con procesos de señalización y diferenciación asociados a estructuras reproductivas, afectando la capacidad de reproducción además del crecimiento vegetativo (Yan et al., 2023). En el caso de *M. roreri*, este efecto resulta especialmente pertinente porque complementa la inhibición micelial con una disminución del potencial de propagación, lo que refuerza el valor del mucílago fermentado como alternativa de control biológico.

La disminución de biomasa fúngica respalda que el efecto del mucílago fermentado no se limita a restringir la expansión radial, sino que compromete la acumulación de masa micelial, lo cual sugiere una afectación fisiológica más profunda. En estudios con compuestos bioactivos vegetales se han reportado reducciones de biomasa asociadas a alteraciones de permeabilidad celular y afectación de procesos biosintéticos esenciales, lo que resulta coherente con la respuesta observada bajo las condiciones de mayor eficacia (Li et al., 2022). Además, al comparar de manera conceptual con estrategias biológicas y químicas utilizadas en el manejo de patógenos del cacao, el mucílago fermentado podría considerarse un componente complementario dentro de enfoques integrados que buscan reducir la dependencia exclusiva de medidas sintéticas (Guato Molina et al., 2019; Bateman et al., 2005).

Los ensayos asociados a integridad de membrana sostienen un mecanismo consistente con daño celular, ya que el aumento de conductividad y la liberación de componentes intracelulares reflejan pérdida de homeostasis y fuga de solutos. Este patrón ha sido descrito cuando compuestos fenólicos o mezclas bioactivas desestabilizan la membrana plasmática y provocan permeabilización, con efectos directos sobre viabilidad y desempeño del microorganismo (He et al., 2018; Takó et al., 2020).

La fermentación puede intensificar este efecto al potenciar fracciones activas de la matriz y favorecer un perfil bioactivo con mayor capacidad antimicrobiana, lo cual es coherente con revisiones que describen mecanismos basados en permeabilización y estrés asociado a metabolitos bioactivos (Angane et al., 2022). En conjunto, los hallazgos sostienen que el mucílago de cacao fermentado presenta potencial como

alternativa biológica con efecto dependiente de fermentación y concentración; sin embargo, su proyección requiere validaciones posteriores fuera del entorno de laboratorio, así como una caracterización química que permita vincular con precisión el perfil de metabolitos con la magnitud del efecto observado.

## 5. Conclusiones

En condiciones de laboratorio, el mucílago de cacao fermentado mostró capacidad antifúngica frente a *Moniliophthora roreri*, y su eficacia dependió del tiempo de fermentación y de la concentración aplicada. La fermentación de 10 y 15 días incrementó la inhibición del crecimiento micelial, y la combinación de 15 días con 10 % alcanzó 86,00 % de inhibición a los 15 días de evaluación. Los ensayos de integridad de membrana respaldaron este efecto, con aumento de la conductividad relativa hasta 94 % y liberación de compuestos intracelulares (absorbancia 0,88 a 256 nm), lo que sugiere permeabilización celular como mecanismo predominante. En conjunto, los resultados sustentan el potencial del mucílago como insumo de bajo impacto para estrategias sostenibles de manejo de la moniliasis, siempre que se estandaricen fermentación y dosificación. Se recomienda validar su desempeño en campo en diferentes épocas y localidades, evaluar estabilidad y caracterizar su composición para asociar metabolitos con eficacia.

## CONFLICTO DE INTERESES

“Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses”.

## Referencias Bibliográficas

- Aime, MC; Phillips-Mora, W. 2005. The causal agents of witches' broom and frosty pod rot of cacao (*Theobroma cacao*) form a new lineage of Marasmiaceae. *Mycologia* 97(5):1012–1022. <https://doi.org/10.3852/mycologia.97.5.1012>
- Angane, M; Swift, S; Huang, K; Butts, CA; Quek, SY. 2022. Essential Oils and Their Major Components: An Updated Review of Antimicrobial Activities, Mechanism of Action, and Their Potential Application in the Food Industry. *Foods* 11(3):464. <https://doi.org/10.3390/foods11030464>.
- Barsottini, MRO; Barbosa, LV; Goncalves, FJ. 2023. Metabolic adaptations in *Moniliophthora roreri*: implications for cocoa frosty pod rot management. *Phytopathology*. 113(5):892-905.
- Bateman, R; Hidalgo, E; Garcia, J; Arroyo, C; Hoopen, G; Adonijah, V; Krauss, U. 2005. Application of chemical and biological agents for the management of frosty pod rot (*Moniliophthora roreri*) in Costa Rican cocoa (*Theobroma cacao*). *Annals of Applied Biology*, 147, 129-138. <https://doi.org/10.1111/J.1744-7348.2005.00012.X>

- Beg, M; Ahmad, S; Jan, K; Bashir, K. 2017. Status, supply chain and processing of cocoa - A review. *Trends in Food Science and Technology*, 66, 108-116. <https://doi.org/10.1016/J.TIFS.2017.06.007>.
- Calvo, AM; Botina, BL; García, MC; et al. 2021. Dynamics of cocoa fermentation and its effect on quality. *Scientific Reports* 11:16746.
- Da Silva, JP; Carvalho, SR; Mendes, FS. 2022. Economic importance and sustainability challenges of cocoa production: a global overview. *Agricultural Systems*, 199, 103351. <https://doi.org/10.1016/j.agsy.2022.103351>.
- García, J. 2021. *Evaluación de la viabilidad de bio - formulaciones a base de PGPRs y sus efectos en plantaciones de Theobroma cacao L. CCN51* [Tesis]. Quevedo, Los Ríos, Ecuador: Universidad Técnica Estatal de Quevedo.
- Guato Molina, JJ; Auhing Arcos, JJ; Abelcrespo Ávila, J; Esmeraldas García, GA; Mendoza León, AF; Canchignia Martínez, HF. 2019. Plant growth promoting bacteria with potential biocontrol agent of *Fusarium oxysporum*. sp. *lycopersici*, and *Moniliophthora roreri*. *Revista Scientia Agropecuaria* 10(3):393- 402.
- Gutiérrez, A; Gómez, S; Pérez, L. 2021. Potential of cacao mucilage as a biological control agent against *Moniliophthora* spp. in *Theobroma cacao* cultivation. *Biological Control*, 160, 104652. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2021.104652>
- He, J; Wu, D; Zhang, Q; Chen, H; Li, H; Han, Q; Lai, X; Wang, H; Wu, Y; Yuan, J; Dong, H; Qin, W. 2018. Efficacy and mechanism of cinnamon essential oil on inhibition of *Colletotrichum acutatum* isolated from 'Hongyang' Kiwifruit. *Frontiers in Microbiology* 9:1288. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01288>.
- Li, X; Wang, Q; Li, H; Wang, X; Zhang, R; Yang, X; Jiang, Q; Shi, Q. 2022. Revealing the mechanisms for linalool antifungal activity against *fusarium oxysporum* and its efficient control of *fusarium* wilt in tomato plants. *International Journal of Molecular Sciences* 24(1):458. <https://doi.org/10.3390/ijms24010458>.
- Maggi, F; La Cecilia, D; Tang, F; McBratney, A. 2020. The global environmental hazard of glyphosate use. *The Science of the Total Environment*, 717, 137167. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.137167>.
- Moreno, S; Morán, E; Quijije, I; Ochoa, D. 2021. Mucílago de *Theobroma cacao* L. como base para un bioantimicrobiano mezclado con dos ácidos débiles: alternativas ecológicas. *Ecuadorian Science Journal*, 5(4), 98–108.
- Nurika, G; Indrayani, R; Syamila, A; Adi, D. 2022. Manejo de la contaminación por plaguicidas en el medio ambiente y productos agrícolas: una revisión de la literatura. *Jurnal Kesehatan Lingkungan*. <https://doi.org/10.20473/jkl.v14i4.2022.265-281> .
- Pérez-Bustamante, GM; López, JP. 2022. Structural responses of fungal pathogens to phytochemicals: A review. *Journal of Fungal Biology* 8(2):102-115.
- Rojas, ES; Torres, GJ; Álvarez, LM. 2021. Genetic diversity of *Moniliophthora* spp. and its impact on disease management strategies. *Phytopathology* 111(4):789-798.

- Sharma, A; Shukla, A; Attri, K; Kumar, M; Kumar, P; Suttee, A; Singh, G; Baranwal, R; Singla, N. 2020. Tendencias mundiales en pesticidas: una amenaza inminente y alternativas viables. *Ecotoxicología y seguridad ambiental*, 201, 110812. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.110812> .
- Takó, M; Kerekes, EB; Zambrano, C; Kotogán, A; Papp, T; Krisch, J; Vágvölgyi, C. 2020. Plant Phenolics and Phenolic - Enriched Extracts as Antimicrobial Agents against Food-Contaminating Microorganisms. *Antioxidants* 9(2):165. <https://doi.org/10.3390/antiox9020165>.
- Tiwari, BK; Valdramidis, VP; O'Donnell, CP; Muthukumarappan, K; Bourke, P; Cullen, PJ. 2009. Application of Natural Antimicrobials for Food Preservation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 57(14):5987-6000. <https://doi.org/10.1021/jf900668n>.
- Tudi, M; Ruan, H; Wang, L; Lyu, J; Sadler, R; Connell, D; Chu, C; Phung, D. 2021. Agriculture Development, Pesticide application and Its impact on the Environment. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 18. <https://doi.org/10.3390/ijerph18031112>.
- Vélez, PE; Posada, FJ; Marín, P; González, MT; Osorio, E; Bustillo, AE. 2023. Técnicas para el control de calidad de formulaciones de hongos entomopatógenos. Cenicafé, 1997. 34p. (Boletín Técnico No. 17).
- Wang, Z; Jin, X; Zhang, X; Xie, X; Tu, Z; He, X. 2022. From function to metabolome: metabolomic analysis reveals the effect of probiotic fermentation on the chemical compositions and biological activities of *Perilla frutescens* leaves. *Frontiers in Nutrition* 9:933193. <https://doi.org/10.3389/fnut.2022.933193>.
- Yan, H; Meng, X; Lin, X; Duan, N; Wang, Z; Wu, S. 2023. Antifungal activity and inhibitory mechanisms of ferulic acid against the growth of *Fusarium graminearum*. *Food Bioscience* 52:102414. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2023.102414>.
- Yang, F; Chen, C; Ni, D; Yang, Y; Tian, J; Li, Y; Chen, S; Ye, X; Wang, L. 2023. Effects of Fermentation on Bioactivity and the Composition of Polyphenols Contained in Polyphenol-Rich Foods: A Review. *Foods* 12(17):3315. <https://doi.org/10.3390/foods12173315>