



UNIVERSIDAD ESTATAL DE MILAGRO

REPÚBLICA DEL ECUADOR

UNIVERSIDAD ESTATAL DE MILAGRO
FACULTAD DE POSGRADO

VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

ARTÍCULOS PROFESIONALES DE ALTO NIVEL
PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE:

MAGÍSTER EN BIOTECNOLOGÍA

TEMA:

Valorización biotecnológica de la microbiota del mucílago de cacao para la
supresión sostenible de *Nigrospora osmanthi* en sistemas de producción de
banano

Autor:

Ing. Tobar Mena Josue Andres

Tutor:

MSc. Chenche Lopez Oscar Mauricio

Milagro, 2026

Valorización biotecnológica de la microbiota del mucílago de cacao para la supresión sostenible de *Nigrospora osmanthi* en sistemas de producción de banano

Biotechnological Valorization of Cacao Mucilage Microbiota for Sustainable Suppression of *Nigrospora osmanthi* in Banana Production Systems

Para citar este trabajo:

Tobar, J. y Chenche, O. (2026). Valorización biotecnológica de la microbiota del mucílago de cacao para la supresión sostenible de *Nigrospora osmanthi* en sistemas de producción de banano. *Reincisol*, 6(10), pp. 1840. [https://doi.org/10.65835/reincisol.V6\(10\)1840](https://doi.org/10.65835/reincisol.V6(10)1840)

Autores:

Josué Andrés Tobar Mena

Universidad Estatal de Milagro

Milagro, Ecuador

Correo Institucional: jtobarm2@unemi.edu.ec

Orcid <https://orcid.org/0009-0003-0914-7527>

Oscar Mauricio Chenche López

Universidad Estatal de Milagro

Milagro, Ecuador

Correo Institucional: ochenchel@unemi.edu.ec

Orcid <https://orcid.org/0009-0005-6302-3749>

RECIBIDO: 24 julio 2026

ACEPTADO: 21 agosto 2026

PUBLICADO: 14 septiembre 2026

Resumen

La creciente demanda de estrategias sostenibles para el manejo de enfermedades ha estimulado el interés en la explotación de recursos microbianos nativos como alternativas a los fungicidas sintéticos en los sistemas agrícolas. El mucílago de cacao, un subproducto abundante del procesamiento del cacao, alberga comunidades microbianas diversas con potenciales aplicaciones biotecnológicas. Este estudio investigó la capacidad de bacterias ácido-lácticas (BAL) nativas, aisladas de mucílago de cacao fermentado, para suprimir el crecimiento de *Nigrospora osmanthi*, una especie fúngica asociada con daños foliares en cultivos de banano. La caracterización molecular se realizó mediante la secuenciación del gen ARNr 16S para los aislamientos bacterianos y el análisis de la región ITS para la identificación del hongo. El consorcio bacteriano estuvo dominado por *Lentilactobacillus nagelii*, *Levilactobacillus brevis* y *Limosilactobacillus fermentum*. La actividad antifúngica se evaluó utilizando ensayos de cultivo dual, mientras que la dinámica de crecimiento fúngico se examinó mediante modelado matemático. El consorcio de BAL restringió significativamente el desarrollo fúngico y modificó parámetros clave de crecimiento, lo que indica un efecto antagónico sostenido a lo largo del período de incubación. Los resultados sugieren que las poblaciones microbianas asociadas naturalmente con la fermentación del cacao constituyen una fuente valiosa de agentes de control biológico capaces de contribuir a la protección sostenible de los cultivos. Este estudio proporciona evidencia que respalda la valorización de los subproductos del procesamiento del cacao dentro de las estrategias de bioeconomía circular y destaca el potencial de los consorcios de BAL nativos como componentes de programas de manejo integrado de enfermedades para los sistemas de producción de banano.

Palabras clave: agricultura sostenible; bacterias ácido-lácticas; bioeconomía circular; control biológico; fermentación del cacao; microbiota nativa; *Nigrospora osmanthi*.

Abstract

The increasing demand for sustainable disease management strategies has stimulated interest in the exploitation of indigenous microbial resources as alternatives to synthetic fungicides in agricultural systems. Cacao mucilage, an abundant by-product of cocoa processing, harbors diverse microbial communities with potential biotechnological applications. This study investigated the capacity of native lactic acid bacteria (LAB) isolated from fermented cacao mucilage to suppress the growth of *Nigrospora osmanthi*, a fungal species associated with foliar damage in banana crops. Molecular characterization was performed through 16S rRNA gene sequencing for bacterial isolates and ITS region analysis for fungal identification. The bacterial consortium was dominated by *Lentilactobacillus nagelii*, *Levilactobacillus brevis*, and *Limosilactobacillus fermentum*. Antifungal activity was evaluated using dual-culture assays, while fungal growth dynamics were examined through mathematical modeling. The LAB consortium significantly restricted fungal development and modified key growth parameters, indicating a sustained antagonistic effect throughout the incubation period. The results suggest that microbial populations naturally associated with cacao fermentation constitute a valuable source of biological control agents capable of contributing to sustainable crop protection. This study provides evidence supporting the valorization of cacao-processing by-products within circular bioeconomy strategies and highlights the potential of indigenous LAB consortia as components of integrated disease management programs for banana production systems.

Keywords: biological control; circular bioeconomy; cacao fermentation; indigenous microbiota; lactic acid bacteria; *Nigrospora osmanthi*; sustainable agriculture.

INTRODUCCIÓN

La producción de banano desempeña un papel fundamental en la seguridad alimentaria mundial y en el comercio agrícola internacional, particularmente en los países tropicales donde este cultivo representa un recurso económico de primer orden. Ecuador se mantiene como uno de los principales exportadores de banano a nivel mundial, con extensas áreas de cultivo concentradas en las provincias costeras, las cuales se caracterizan por condiciones ambientales favorables para el desarrollo del cultivo. Sin embargo, estas mismas condiciones promueven con frecuencia el establecimiento y la propagación de patógenos fúngicos capaces de reducir el rendimiento y la calidad de la fruta (Food and Agriculture Organization of the United Nations [FAO], 2024; Dita et al., 2018).

Entre los organismos fúngicos asociados recientemente con síntomas de enfermedades en cultivos tropicales, las especies pertenecientes al género *Nigrospora* han captado una creciente atención debido a su capacidad para colonizar una amplia gama de hospederos y causar manchas foliares y enfermedades necróticas en cultivos de importancia económica (Hao et al., 2020; Huang et al., 2024). Los informes que describen especies de *Nigrospora* en diferentes sistemas agrícolas sugieren que estos hongos poseen una considerable adaptabilidad ecológica y podrían convertirse en problemas fitosanitarios importantes en los sistemas de producción comercial. Los síntomas comúnmente asociados con la infección incluyen lesiones necróticas, deterioro del tejido y una reducción progresiva en el vigor de la planta, lo que en última instancia afecta la productividad del cultivo (Chen et al., 2019; Ismail et al., 2022).

El manejo de enfermedades fúngicas en las plantaciones de banano ha dependido tradicionalmente de aplicaciones repetidas de fungicidas sintéticos. Aunque estos productos suelen proporcionar una supresión rápida de la enfermedad, la preocupación por la contaminación ambiental, la resistencia de los patógenos y los impactos potenciales en la salud humana han estimulado el desarrollo de estrategias alternativas de manejo de enfermedades (Ismail et al., 2023; Du et al., 2024). Por lo tanto, el control biológico basado en microorganismos benéficos ha surgido como un componente clave de la agricultura sostenible y de los programas de manejo integrado de enfermedades.

Las bacterias ácido-lácticas (BAL) constituyen un grupo diverso de microorganismos reconocidos por su capacidad para producir metabolitos con propiedades antimicrobianas. Evidencia reciente indica que las BAL producen ácidos orgánicos, ácido fenil-láctico, reuterina, exopolisacáridos, bacteriocinas y otros compuestos bioactivos capaces de inhibir el crecimiento de hongos fitopatógenos (Saragoça et al., 2024; Hirozawa et al., 2023). Estos microorganismos han atraído una atención considerable como alternativas ecológicas a los agroquímicos sintéticos debido a que pueden suprimir el desarrollo de patógenos al tiempo que reducen los impactos ecológicos asociados con las prácticas convencionales de manejo de enfermedades.

El mucílago de cacao fermentado representa un nicho ecológico particularmente interesante para el descubrimiento de microorganismos benéficos. Durante la fermentación, este sustrato sustenta comunidades microbianas complejas dominadas por levaduras, bacterias ácido-lácticas y bacterias ácido-acéticas que interactúan a lo largo del proceso de transformación. La diversidad microbiana asociada con la fermentación del cacao ha atraído un creciente interés científico debido a que muchos de estos microorganismos poseen características que pueden ser explotadas en la biotecnología, la agricultura y la producción de alimentos (De Vuyst & Leroy, 2020).

A pesar de la reconocida capacidad antimicrobiana de las BAL, se dispone de información limitada sobre la efectividad de los consorcios bacterianos derivados del mucílago de cacao contra patógenos fúngicos emergentes que afectan a los cultivos de banano. Además, la integración de técnicas de identificación molecular, el perfil taxonómico microbiano y el modelado cuantitativo del crecimiento brindan una oportunidad para comprender mejor los mecanismos que subyacen a las interacciones antagónicas entre las bacterias benéficas y los hongos fitopatógenos. Por lo tanto, el objetivo de esta investigación fue caracterizar bacterias ácido-lácticas nativas aisladas de mucílago de cacao y evaluar su actividad inhibitoria contra *Nigrospora osmanthi* bajo condiciones controladas de laboratorio. Adicionalmente, se emplearon la identificación molecular y el modelado del crecimiento fúngico para evaluar el potencial de estas poblaciones bacterianas autóctonas como candidatas para programas de control biológico en agroecosistemas de banano.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de Estudio y Procedimientos de Muestreo

Se recolectó material vegetal que presentaba síntomas de necrosis foliar y lesiones circulares en plantaciones comerciales de banano ubicadas en la provincia del Guayas, Ecuador. El muestreo se llevó a cabo durante la estación seca para minimizar la variabilidad ambiental y facilitar la identificación de síntomas activos de la enfermedad. Las hojas sintomáticas se extirparon de forma aséptica, se colocaron en bolsas de papel estériles, se transportaron bajo condiciones de refrigeración y se procesaron dentro de las 12 horas posteriores a su recolección. Para el aislamiento de las bacterias ácido-lácticas, se obtuvo mucílago de cacao fresco a partir de unidades de fermentación artesanal ubicadas dentro de la misma región geográfica. Las muestras se transfirieron a contenedores estériles, se mantuvieron a baja temperatura durante el transporte y se procesaron inmediatamente al llegar al laboratorio para preservar la viabilidad microbiana.

Aislamiento e Identificación del Hongo Fitopatógeno

Se extirparon fragmentos de hoja (aproximadamente de 5mm) de la zona de transición entre el tejido sano y el enfermo. La esterilización superficial se realizó utilizando etanol al 70%, seguido de un enjuague con agua destilada estéril. Los fragmentos esterilizados se transfirieron a agar papa dextrosa (PDA) y se incubaron a 28 °C hasta que las colonias fúngicas se hicieron visibles.

Las colonias representativas que exhibían características morfológicas consistentes con el género *Nigrospora* se purificaron mediante subcultivos sucesivos. El ADN genómico se extrajo a partir de micelio en crecimiento activo, y la región del espaciador transcrito interno (ITS) se amplificó utilizando cebadores (primers) fúngicos universales. La evaluación de la calidad de las secuencias, la edición y la asignación taxonómica se realizaron mediante la comparación con bases de datos de nucleótidos curadas. La identificación a nivel de especie se aceptó cuando la similitud de la secuencia superó el 99% (Hao et al., 2020; Huang et al., 2024; Lee et al., 2023).

Aislamiento de Bacterias Ácido-Lácticas

Se prepararon diluciones decimales seriadas del mucílago de cacao utilizando solución salina fisiológica estéril (0.85% NaCl). Las alícuotas se sembraron por extensión en agar de Man-Rogosa-Sharpe (MRS) suplementado con cicloheximida para suprimir el desarrollo fúngico. Las placas se incubaron bajo condiciones microaerófilas a 35 °C durante 48 horas.

Las colonias que presentaron rasgos morfológicos comúnmente asociados con las bacterias ácido-lácticas, incluyendo apariencia cremosa, márgenes circulares y superficies lisas, fueron seleccionadas y purificadas mediante estriado repetido. Los aislamientos puros se preservaron en caldo MRS con glicerol y se almacenaron a -80 °C hasta su posterior caracterización.

Caracterización Molecular de las Bacterias Ácido-Lácticas

El ADN genómico de los aislamientos bacterianos purificados se extrajo utilizando un protocolo comercial de extracción de ADN bacteriano. La amplificación del gen ARNr 16S se realizó mediante el uso de cebadores bacterianos universales. Los amplicones se secuenciaron y analizaron mediante la comparación con bases de datos de referencia para determinar su identidad taxonómica.

Para caracterizar la composición microbiana del consorcio bacteriano, los datos de secuenciación de amplicones se sometieron a un filtrado de calidad, clasificación taxonómica y análisis de abundancia relativa. Los perfiles resultantes permitieron la identificación de los taxones bacterianos dominantes y la estimación de su contribución a la estructura del consorcio.

Ensayo Antifúngico In Vitro

La actividad antagonica del consorcio de BAL contra *Nigrospora osmanthi* se evaluó mediante un ensayo de cultivo dual. Un disco de micelio obtenido del borde en crecimiento activo de la colonia fúngica se colocó en el centro de una placa de PDA. Posteriormente, se inocularon suspensiones bacterianas estandarizadas a aproximadamente 10^8 UFC mL⁻¹ en posiciones equidistantes alrededor del inóculo fúngico.

Las placas se incubaron a 28 °C, y el crecimiento radial del hongo se monitoreó diariamente a lo largo del período experimental. Los tratamientos de control consistieron en cultivos fúngicos desarrollados en ausencia de la suspensión bacteriana.

Análisis Cinético del Crecimiento

Los datos de crecimiento temporal obtenidos tanto de los cultivos de control como de los tratados se analizaron utilizando el modelo de crecimiento de Baranyi–Roberts (Baranyi & Roberts, 1994). El modelo se empleó para estimar la tasa de crecimiento máxima (μ_{max}), la duración de la fase de latencia o adaptación (λ) y la expansión máxima de la colonia (N_{max}).

La estimación de los parámetros se realizó mediante procedimientos de regresión no lineal implementados en el software R. La adecuación del modelo se evaluó a través de los coeficientes de determinación (R^2) y el análisis de residuos.

Análisis Estadístico

Todos los experimentos se llevaron a cabo utilizando tres réplicas biológicas independientes. La normalidad de los datos y la homogeneidad de la varianza se evaluaron antes de realizar las pruebas estadísticas. Las diferencias entre los tratamientos se analizaron mediante un análisis de varianza (ANOVA) de una vía, seguido de la prueba de comparación múltiple de Tukey cuando se detectaron efectos significativos.

La significancia estadística se estableció con un nivel de confianza del 95% ($p < 0.05$). Todos los análisis se realizaron utilizando el software RStudio.

RESULTADOS

Identificación del Hongo Patógeno Asociado con Lesiones Foliares en Banano

Las observaciones morfológicas de las colonias fúngicas recuperadas de hojas de banano sintomáticas revelaron un rápido desarrollo micelial acompañado de una pigmentación oscura y una abundante esporulación. El análisis molecular de la región ITS confirmó la identidad taxonómica del aislamiento como *Nigrospora osmanthi*.

La secuenciación de amplicones generó un alto número de lecturas filtradas por calidad, lo que permitió una asignación taxonómica robusta. El análisis demostró que aproximadamente el 97% de las secuencias fúngicas correspondían a *N. osmanthi*, indicando que esta especie era el microorganismo dominante asociado con las lesiones analizadas. Las lecturas restantes representaron taxones fúngicos

menores presentes en bajas abundancias relativas y no se consideraron contribuyentes relevantes en el desarrollo de los síntomas.

La predominancia de *N. osmanthi* respalda su asociación con el daño foliar observado en las plantas de banano muestreadas y es consistente con informes recientes que describen la creciente aparición de esta especie en sistemas de cultivo tropicales y subtropicales (Huang et al., 2024; Lee et al., 2023).

Composición Taxonómica del Consorcio de Bacterias Ácido-Lácticas

El perfil taxonómico microbiano del consorcio bacteriano obtenido de mucílago de cacao fermentado reveló una comunidad fuertemente dominada por bacterias ácido-lácticas. La clasificación de las secuencias identificó tres taxones principales que, en conjunto, representaron más del 90% de las lecturas bacterianas totales. La especie más abundante fue *Lentilactobacillus nagelii*, que representó el 56.03% de las secuencias detectadas. A esta especie le siguieron *Levilactobacillus brevis* (12.31%) y *Limosilactobacillus fermentum* (8.11%). Juntos, estos microorganismos constituyeron la estructura central del consorcio utilizado en los ensayos de antagonismo posteriores.

No se detectó evidencia de microorganismos potencialmente patógenos o de taxones comúnmente asociados con determinantes de resistencia antimicrobiana en el conjunto de datos analizado. Esta observación respalda la inocuidad microbiológica del consorcio y destaca su idoneidad para una posterior evaluación como agente de control biológico.

La predominancia de estas especies bacterianas es particularmente relevante porque previamente se les ha asociado con la producción de ácidos orgánicos, bacteriocinas y otros metabolitos capaces de suprimir el desarrollo fúngico (Krishnan et al., 2025; Vasundaradevi et al., 2025).

Supresión de *Nigrospora osmanthi* por el Consorcio de BAL

Los ensayos de cultivo dual demostraron un claro efecto inhibitorio del consorcio bacteriano sobre el desarrollo fúngico a lo largo del período de incubación. Las diferencias entre los cultivos tratados y los no tratados se hicieron evidentes durante los primeros días de incubación y aumentaron progresivamente con el tiempo. Después de diez días, las colonias desarrolladas sin interferencia bacteriana alcanzaron una expansión radial promedio de 29.8 mm, mientras que las colonias

expuestas al consorcio de BAL lograron solo 21.0 mm (Tabla 1). Esta reducción refleja una restricción sustancial del desarrollo fúngico bajo las condiciones experimentales evaluadas.

La inspección visual de las placas de interacción reveló una marcada disminución en la densidad micelial y en la expansión de la colonia en presencia del inóculo bacteriano. Además del crecimiento radial reducido, las colonias tratadas exhibieron un retraso en la colonización del medio de cultivo en comparación con el tratamiento de control.

La respuesta inhibitoria observada *in vitro* sugiere que los metabolitos producidos por el consorcio bacteriano interfirieron con el establecimiento del hongo y el posterior desarrollo micelial.

Tabla 1

Crecimiento radial de Nigrospora osmanthi durante los ensayos de antagonismo in vitro

Día	Control (mm)	Tratamiento BAL (mm)
1	12.4	11.4
2	16.2	12.8
3	18.6	13.8
4	23.6	16.4
5	24.4	17.4
6	26.0	18.4
7	27.0	19.4
8	27.8	20.2
9	28.8	20.8
10	29.8	21.0

Cinética de Crecimiento de *N. osmanthi* Bajo Antagonismo Bacteriano

El modelado matemático mediante la ecuación de Baranyi–Roberts proporcionó evidencia cuantitativa de los efectos inhibitorios ejercidos por el consorcio de BAL. Los modelos ajustados mostraron una excelente concordancia con los datos observados, como lo reflejan los coeficientes de determinación superiores a 0.98 para ambos tratamientos.

La tasa de crecimiento máxima estimada del patógeno disminuyó de 3.28 mm día⁻¹ en el tratamiento de control a 1.91 mm día⁻¹ cuando se expuso al consorcio bacteriano. Esta reducción representa una limitación sustancial en la capacidad de crecimiento fúngico.

Asimismo, la duración de la fase de latencia aumentó de 0.8 días en los cultivos no tratados a 1.7 días en los cultivos tratados con BAL, lo que indica que el antagonismo bacteriano retrasó la adaptación del hongo al entorno de cultivo. El desarrollo máximo de la colonia también disminuyó de 29.2 mm a 21.3 mm en presencia del consorcio (Tabla 2).

Tabla 2

Parámetros cinéticos de crecimiento estimados mediante el modelo de Baranyi–Roberts

Parámetro	Control	Tratamiento BAL
$\mu_{\max}$ (mm día ⁻¹)	3.28	1.91
λ (días)	0.8	1.7
$N_{\max}$ (mm)	29.2	21.3
R^2	0.994	0.981

Análisis Comparativo de las Curvas de Crecimiento

Las curvas de crecimiento generadas a partir de las mediciones diarias revelaron patrones de desarrollo distintos entre los tratamientos. Las no tratadas exhibieron una rápida expansión de la colonia a lo largo del período de incubación,

caracterizada por una trayectoria de crecimiento empinada y un alcance temprano del tamaño máximo de la colonia.

Por el contrario, los cultivos expuestos al consorcio de BAL mostraron un aumento más lento y gradual en el crecimiento radial. La separación entre ambas curvas se hizo progresivamente mayor a medida que avanzaba la incubación, lo que indica una actividad inhibitoria sostenida durante todo el período experimental.

Los análisis de tendencia lineal confirmaron aún más el efecto supresor del consorcio bacteriano, ya que los cultivos tratados exhibieron una pendiente de crecimiento sustancialmente menor que el control. Estos hallazgos demuestran colectivamente que el consorcio de BAL no solo redujo el tamaño final de la colonia, sino que también alteró la dinámica general de crecimiento de *N. osmanthi*.

Resumen de los Hallazgos Principales

La combinación de identificación molecular, perfil taxonómico microbiano, ensayos de antagonismo y modelado cinético del crecimiento proporcionó evidencia convergente que respalda la actividad antifúngica de las bacterias ácido-lácticas nativas aisladas del mucílago de cacao. Los análisis de secuenciación de amplicones confirmaron la predominancia de *N. osmanthi* en los tejidos enfermos de banano e identificaron un consorcio bacteriano dominado por *L. nagelii*, *L. brevis* y *L. fermentum*. Los ensayos experimentales demostraron una inhibición constante del desarrollo fúngico, mientras que el modelado del crecimiento cuantificó las reducciones en la tasa de crecimiento y los retrasos en la adaptación del hongo. Juntos, estos resultados respaldan la aplicación potencial de los consorcios de BAL nativos como componentes de estrategias sostenibles de manejo de enfermedades para los sistemas de producción de banano.

Discusión

El presente estudio demuestra que las bacterias ácido-lácticas nativas aisladas del mucílago de cacao poseen una capacidad medible para suprimir el crecimiento de *Nigrospora osmanthi* bajo condiciones controladas de laboratorio. La integración de la identificación molecular, el perfil taxonómico de la comunidad microbiana y el análisis cuantitativo del crecimiento proporcionaron un marco integral para evaluar el potencial de control biológico de estos microorganismos. La reducción observada en el desarrollo fúngico respalda el creciente cuerpo de evidencia que

indica que las BAL pueden servir como antagonistas efectivos contra hongos fitopatógenos que afectan a cultivos de importancia económica.

La dominancia de *Nigrospora osmanthi* en los tejidos sintomáticos de banano sugiere que este hongo puede desempeñar un papel significativo en el desarrollo de las lesiones foliares observadas en los sistemas de producción evaluados. Aunque las especies del género *Nigrospora* históricamente han sido consideradas organismos oportunistas, estudios recientes han documentado su creciente asociación con enfermedades de las plantas en diversos entornos agrícolas (Hao et al., 2020; Huang et al., 2024; Lee et al., 2023). La alta abundancia relativa observada en la presente investigación refuerza la hipótesis de que *N. osmanthi* puede representar una amenaza fitopatógena emergente que requiere mayor atención dentro de los sistemas tropicales de producción de banano.

Uno de los hallazgos más relevantes de este estudio fue la inhibición constante del crecimiento radial fúngico en presencia del consorcio de BAL. Efectos antagónicos similares se han reportado para bacterias ácido-lácticas aisladas de frutas, productos fermentados y entornos asociados a plantas, donde la supresión de patógenos fúngicos se ha atribuido a múltiples mecanismos bioquímicos (Hirozawa et al., 2023; Kowalska & Wrzodak, 2025). A diferencia de los fungicidas químicos, que generalmente se dirigen a vías metabólicas específicas, las BAL a menudo ejercen su actividad inhibitoria mediante una combinación de producción de ácidos orgánicos, acidificación ambiental, exclusión competitiva, agotamiento de nutrientes y síntesis de metabolitos antimicrobianos. Este modo de acción multifactorial puede reducir la probabilidad de desarrollo de resistencia y contribuir al manejo de enfermedades a largo plazo.

La composición microbiana del consorcio también es digna de mención. La predominancia de *Lentilactobacillus nagelii*, acompañada de *L. brevis* y *L. fermentum*, sugiere la existencia de interacciones metabólicas complementarias que podrían potenciar la eficacia antifúngica. Investigaciones previas han demostrado que los consorcios microbianos mixtos frecuentemente superan a las cepas individuales debido a que diferentes especies aportan distintas funciones metabólicas que, de manera colectiva, fortalecen la actividad antagónica (Krishnan et al., 2025; Vasundaradevi et al., 2025). Por lo tanto, la coexistencia de estos

taxones puede generar un espectro más amplio de compuestos de inhibición de lo que se esperaría de aplicaciones con una sola cepa.

El modelado cinético del crecimiento aportó una perspectiva adicional sobre la naturaleza de la interacción antagónica. La marcada reducción en la tasa de crecimiento máxima, junto con la extensión de la fase de latencia, indica que el consorcio bacteriano interfirió con las etapas tempranas del establecimiento del hongo. El retraso en la adaptación es particularmente importante desde el punto de vista agrícola porque puede reducir la capacidad del patógeno para colonizar rápidamente los tejidos vegetales e iniciar el desarrollo de la enfermedad. Alteraciones similares en la dinámica de crecimiento se han observado en estudios que evalúan antagonistas microbianas contra hongos filamentosos, donde la exposición a metabolitos inhibitorios resultó en estrés fisiológico y retraso en la expansión micelial (Baranyi & Roberts, 1994; Du et al., 2024).

Otro aspecto importante se refiere al origen de los aislamientos bacterianos. El mucílago de cacao es un subproducto agrícola abundante en Ecuador y frecuentemente se subutiliza a pesar de su rica diversidad microbiana. Los resultados obtenidos aquí respaldan informes previos que indican que la microbiota asociada a la fermentación representa un valioso reservorio de microorganismos con aplicaciones que se extienden más allá de la producción de alimentos (Guzmán-Armenteros et al., 2025; Llerena et al., 2023). La explotación de los recursos microbianos nativos puede contribuir simultáneamente a la valorización de residuos, a la agricultura sostenible y al desarrollo de soluciones biotecnológicas adaptadas localmente.

Desde una perspectiva ambiental, el uso de agentes de control biológico basados en BAL se alinea con los esfuerzos actuales para reducir la dependencia de los fungicidas sintéticos. Las preocupaciones respecto a la resistencia a los fungicidas, la contaminación ambiental y las crecientes restricciones regulatorias han acelerado el interés en estrategias alternativas de manejo de enfermedades en todo el mundo (Ismaila et al., 2023; Du et al., 2024). Los productos biológicos derivados de microorganismos que ocurren de forma natural ofrecen el potencial de minimizar los impactos ecológicos al tiempo que mantienen la productividad del cultivo, lo que los convierte en componentes atractivos para los programas de manejo integrado de plagas y enfermedades.

Limitaciones del estudio

Los resultados se obtuvieron en condiciones controladas de laboratorio y, por tanto, no pueden generalizarse directamente a condiciones de campo. No se evaluó la eficacia del consorcio en plantas vivas ni la persistencia del antagonismo bajo condiciones ambientales tropicales. Tampoco se identificaron los metabolitos específicos responsables de la actividad inhibitoria. El estudio se restringió a un aislamiento de *Nigrospora osmanthi* y a un consorcio bacteriano específico; además, no examinó la compatibilidad del consorcio con otras prácticas agrícolas ni sus posibles efectos sobre la microbiota nativa del suelo. Estas limitaciones justifican ensayos posteriores en invernadero y campo, análisis metabolómicos y evaluaciones de bioseguridad ecológica antes de recomendar una aplicación productiva.

En general, los hallazgos de esta investigación contribuyen a la creciente evidencia que respalda el uso de microorganismos nativos como agentes de control biológico en la agricultura. Al combinar la caracterización molecular mediante secuenciación de amplicones con la validación experimental, este estudio proporciona una base científica para el desarrollo de tecnologías basadas en BAL capaces de sustentar el manejo sostenible de enfermedades en los agroecosistemas de banano.

Conclusiones

Las bacterias ácido-lácticas nativas recuperadas de mucílago de cacao fermentado demostraron una actividad antagónica significativa contra *Nigrospora osmanthi* bajo condiciones controladas de laboratorio. Los análisis moleculares confirmaron la predominancia de *Lentilactobacillus nagelii*, *Levilactobacillus brevis* y *Limosilactobacillus fermentum* dentro del consorcio evaluado, mientras que la identificación basada en ITS verificó a *N. osmanthi* como la especie fúngica dominante asociada con los tejidos sintomáticos de banano.

El consorcio bacteriano redujo de manera constante el crecimiento radial del hongo y alteró parámetros cinéticos clave del crecimiento, incluyendo la tasa de crecimiento máxima y la duración de la fase de latencia. Estas respuestas indican que el antagonismo mediado por BAL afecta tanto al establecimiento del hongo como al desarrollo posterior de la colonia. La integración del perfil taxonómico microbiano con el modelado cuantitativo del crecimiento fortaleció la interpretación

de estos efectos inhibitorios y proporcionó evidencia adicional sobre los posibles mecanismos involucrados.

Los resultados destacan al mucílago de cacao como una fuente valiosa de microorganismos benéficos con aplicaciones potenciales en la protección sostenible de cultivos. La utilización de recursos microbianos nativos puede ofrecer alternativas ambientalmente compatibles a los fungicidas convencionales, al tiempo que contribuye al desarrollo de estrategias de manejo de enfermedades adaptadas localmente para los sistemas de producción de banano.

Perspectivas Futuras

La investigación futura debería enfocarse en validar la efectividad del consorcio de BAL bajo condiciones de invernadero y de campo para determinar su aplicabilidad práctica en la producción comercial de banano. Los estudios que aborden el desarrollo de formulaciones, la estabilidad en almacenamiento (vida útil), la frecuencia de aplicación y la compatibilidad con las prácticas agronómicas existentes serán esenciales para la transferencia de tecnología y la implementación a gran escala.

Además, se podrían emplear enfoques metabolómicos y transcriptómicos para identificar los compuestos específicos responsables de la inhibición fúngica y para dilucidar los mecanismos moleculares que subyacen a las interacciones entre las BAL y el hongo. Ampliar la evaluación de los consorcios microbianos derivados del cacao contra otros fitopatógenos de importancia económica podría revelar aún más el potencial de este subproducto agroindustrial como fuente de agentes de control biológico multifuncionales.

Finalmente, la integración de recursos microbianos nativos dentro de los marcos de la bioeconomía circular representa una estrategia prometedora para mejorar simultáneamente la sostenibilidad agrícola, reducir la dependencia de agroquímicos y promover la valorización de los residuos de la producción de cacao ecuatoriano.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

- Baranyi, J., & Roberts, T. A. (1994). A dynamic approach to predicting bacterial growth in food. *International Journal of Food Microbiology*, 23(3-4), 277-294. [https://doi.org/10.1016/0168-1605\(94\)90157-0](https://doi.org/10.1016/0168-1605(94)90157-0)
- Chen, X., Wang, N., Yang, M.-F., & Li, H.-X. (2019). First report of *Nigrospora* leaf spot caused by *Nigrospora oryzae* on watermelon in China. *Plant Disease*, 103(1), 103. <https://doi.org/10.1094/PDIS-02-18-0284-PDN>
- De Vuyst, L., & Leroy, F. (2020). Functional role of yeasts, lactic acid bacteria and acetic acid bacteria in cocoa fermentation processes. *FEMS Microbiology Reviews*, 44(4), 432-453. <https://doi.org/10.1093/femsre/fuaa014>
- Dita, M., Barquero, M., Heck, D., Mizubuti, E. S. G., & Staver, C. P. (2018). Fusarium wilt of banana: Current knowledge on epidemiology and research needs toward sustainable disease management. *Frontiers in Plant Science*, 9, 1468. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01468>
- Du, C., Yang, D., Jiang, S., Zhang, J., Ye, Y., Pan, L., & Fu, G. (2024). Biocontrol agents inhibit banana Fusarium wilt and alter the rooted soil bacterial community in the field. *Journal of Fungi*, 10(11), 771. <https://doi.org/10.3390/jof10110771>
- Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2024). FAOSTAT: Crops and livestock products. <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL>
- Guzmán-Armenteros, T. M., Guerra, L. S., Ruales, J., & Ramos-Guerrero, L. (2025). Ecuadorian cacao mucilage as a novel culture medium ingredient: Unveiling its potential for microbial growth and biotechnological applications. *Foods*, 14(2), 261. <https://doi.org/10.3390/foods14020261>
- Hao, Y., Aluthmuhandiram, J. V. S., Chethana, K. W. T., Manawasinghe, I. S., Li, X., Liu, M., Hyde, K. D., Phillips, A. J. L., & Zhang, W. (2020). *Nigrospora* species associated with various hosts from Shandong Peninsula, China. *Mycobiology*, 48(3), 169-183. <https://doi.org/10.1080/12298093.2020.1761747>
- Hirozawa, M. T., Ono, M. A., Suguiura, I. M. S., Bordini, J. G., & Ono, E. Y. S. (2023). Lactic acid bacteria and *Bacillus spp.* as fungal biological control

- agents. *Journal of Applied Microbiology*, 134(2), lxac083.
<https://doi.org/10.1093/jambio/lxac083>
- Huang, H., Kong, J., Lin, J., Zhang, X., Xu, G., Ding, W., Jin, R., Wang, W., Chen, J., & Lin, Z. (2024). First complete genome sequence of *Nigrospora osmanthi*: A fundamental resource for studying the plant pathogenic fungus. *PhytoFrontiers*, 4(4), 843-846. <https://doi.org/10.1094/PHYTOFR-12-23-0159-A>
- Ismail, I., Norzaki, N., Ya'acob, M., & Jamian, S. (2022). First report of *Nigrospora osmanthi* causing leaf blight on *Orthosiphon stamineus* in Malaysia. *Plant Disease*, 106(3), 1072. <https://doi.org/10.1094/PDIS-12-20-2668-PDN>
- Ismaila, A., Ahmad, K., Siddiqui, Y., Wahab, A., Kutawa, A. B., Abdullahi, A., Zobir, S. A. M., Abdu, A., & Abdullah, S. N. A. (2023). Fusarium wilt of banana: Current update and sustainable disease control using classical and essential oils approaches. *Horticultural Plant Journal*, 9(1), 1-28. <https://doi.org/10.1016/j.hpj.2022.02.004>
- Kowalska, B., & Wrzodak, A. (2025). Application potential of lactic acid bacteria in horticultural production. *Sustainability*, 17(4), 1385. <https://doi.org/10.3390/su17041385>
- Krishnan, S. V., Anaswara, P. A., Nampoothiri, K. M., Kovács, S., Adácsi, C., Szarvas, P., Király, S., Pócsi, I., & Pusztahelyi, T. (2025). Biocontrol activity of new lactic acid bacteria isolates against *Fusaria* and Fusarium mycotoxins. *Toxins*, 17(2), 68. <https://doi.org/10.3390/toxins17020068>
- Lee, W., Kim, D.-G., Perera, R. H., Kim, J. S., Cho, Y., Lee, J. W., Seo, C. W., & Lim, Y. W. (2023). Diversity of *Nigrospora* (Xylariales, Apiosporaceae) species identified in Korean macroalgae including five unrecorded species. *Mycobiology*, 51(6), 401-409. <https://doi.org/10.1080/12298093.2023.2283272>
- Llerena, W., Samaniego, I., Vallejo, C., Arreaga, A., Zhunio, B., Coronel, Z., Quiroz, J., Angós, I., & Carrillo, W. (2023). Profile of bioactive components of cocoa (*Theobroma cacao* L.) by-products from Ecuador and evaluation of their antioxidant activity. *Foods*, 12(13), 2583. <https://doi.org/10.3390/foods12132583>

Saragoça, A., Canha, H., Varanda, C. M. R., Materatski, P., Cordeiro, A. I., & Gama, J. (2024). Lactic acid bacteria: A sustainable solution against phytopathogenic agents. *Environmental Microbiology Reports*, 16(6), e70021. <https://doi.org/10.1111/1758-2229.70021>

Vasundaradevi, R., Sarvajith, M., Divyashree, S., Deepa, N., Achar, P. N., & Sreenivasa, M. Y. (2025). Tropical fruit-derived *Lactiplantibacillus* as potential probiotic and antifungal agents against *Fusarium oxysporum*. *Scientific Reports*, 15, 2144. <https://doi.org/10.1038/s41598-025-85190-0>

Conflicto de intereses

Los autores declaran que no existe conflicto de intereses relacionado con esta investigación.

Con certificación de:



DOCUMENTO EDITORIAL OFICIAL

CARTA DE ACEPTACIÓN

Bahía de Caráquez, Ecuador, 14/09/2026

Por medio de la presente, el Comité Editorial de la Revista de Investigación Científica y Social - REINCISOL certifica que el autor:

Josué Andrés Tobar Mena y Oscar Mauricio Chenche López

ha presentado para evaluación editorial el manuscrito titulado:

Valorización biotecnológica de la microbiota del mucílago de cacao para la supresión sostenible de *Nigrospora osmanthi* en sistemas de producción de banano.

Una vez concluido el proceso de revisión por pares y verificados los criterios editoriales establecidos por la revista, el manuscrito ha sido aceptado para su publicación en modalidad de frecuencia continua.

La presente carta se emite como constancia oficial de aceptación y su autenticidad puede comprobarse mediante el código de verificación y el código QR consignados al pie del documento.

Consulta editorial: <https://www.reincisol.com/ojs/index.php/reincisol/index>

RECIBIDO
24/07/2026

ACEPTADO
21/08/2026

EMISIÓN
14/09/2026

CÓDIGO DE VERIFICACIÓN
DOC-20260914163246-20C019817938

INDEXACIÓN Y VISIBILIDAD EDITORIAL

REINCISOL se encuentra indexada en Latindex Catálogo 2.0.



A handwritten signature in black ink, likely belonging to Prof. Gustavo Santacruz Sanabria.



Prof. Gustavo Santacruz Sanabria, PhD.

EDITOR - REINCISOL

VERIFICACIÓN DE AUTENTICIDAD

Documento verificable electrónicamente mediante código o QR.

Código: DOC-20260914163246-20C019817938



Documento oficial emitido por REINCISOL - Bahía de Caráquez, Ecuador - 14/09/2026

UNEMI

UNIVERSIDAD ESTATAL DE MILAGRO

¡Evolución académica!

@UNEMIEcuador

