

Identificación Molecular del Hongo Causante de la Enfermedad de Mazorca Negra en Cultivo de Cacao CCN-51

Molecular Identification of the Fungus Causing Black Pod Disease in CCN-51 Cacao Cultivation

María Celina Santos Falconez, Jorge Gabriel Palacios Revelo, Ángel Virgilio Cedeño Moreira,  
Ketty Vanessa Arellano Ibarra & Diego Quiñonez Navarrete

DIMENSIÓN CIENTÍFICA

Enero - junio, V°7 - N°1; 2026

Recibido: 05-06-2026

Aceptado: 09-06-2026

Publicado: 11-06-2026

PAIS

- Ecuador, Quevedo
- Ecuador, Quevedo
- Ecuador, Quevedo
- Ecuador, Quevedo
- Ecuador, Quevedo






INSTITUCION

- Universidad Técnica Estatal de Quevedo
- Universidad Técnica Estatal de Quevedo
- Universidad Técnica Estatal de Quevedo
- Universidad Técnica Estatal de Quevedo

CORREO:

- ✉ [msantosf@uteq.edu.ec](mailto:msantosf@uteq.edu.ec)
- ✉ [jpalaciosrevelo@gmail.com](mailto:jpalaciosrevelo@gmail.com)
- ✉ [acedenom@uteq.edu.ec](mailto:acedenom@uteq.edu.ec)
- ✉ [ketty.arellano@iniap.gob.ec](mailto:ketty.arellano@iniap.gob.ec)
- ✉ [diegothorne9@gmail.com](mailto:diegothorne9@gmail.com)

ORCID:

-  <https://orcid.org/0000-0001-6047-8426>
-  <https://orcid.org/0000-0002-8509-8486>
-  <https://orcid.org/0000-0002-6564-5569>
-  <https://orcid.org/0000-0001-7168-7485>
-  <https://orcid.org/0009-0001-6466-7512>

FORMATO DE CITA APA.

Santos, F., Palacios, J., Cedeño, A., Arellano, K. & Quiñonez, D. (2026). Identificación Molecular del Hongo Causante de la Enfermedad de Mazorca Negra en Cultivo de Cacao CCN-51. *Revista G-ner@ndo*, V°7 (N°1). Pág. 6621 – 6642.

Resumen

El cacao (*Theobroma cacao* L.) representa un componente estratégico de la economía agrícola del Ecuador, especialmente en la provincia de Los Ríos, donde el cantón Quevedo se posiciona como una de las principales zonas productoras. Sin embargo, la productividad del cultivo se ve seriamente afectada por enfermedades fitopatológicas, entre las que destaca *Lasiodiplodia theobromae*, hongo asociado a patologías de alto impacto como la escoba de bruja y el mal del machete. Estas enfermedades generan pérdidas significativas en rendimiento y calidad, comprometiendo la rentabilidad de los productores y la competitividad del cacao ecuatoriano en el mercado internacional. El objetivo de este estudio fue la identificación molecular de *L. theobromae* en plantaciones de cacao clon CCN-51. La metodología incluyó la extracción de ADN genómico, la amplificación por reacción en cadena de la polimerasa (PCR) de regiones específicas y la secuenciación de los amplicones obtenidos tras electroforesis en gel de agarosa. Los resultados confirmaron la presencia del patógeno en los tejidos analizados. Asimismo, mediante la aplicación de los postulados de Koch, se logró el aislamiento, reinoculación y reaislamiento del hongo, validando su papel como agente causal. El crecimiento micelial mostró un avance significativo a las 42 horas de incubación, y las evaluaciones realizadas en el pedúnculo y el ápice de las mazorcas evidenciaron una mayor susceptibilidad en zonas específicas del fruto. Estos hallazgos aportan bases técnicas para el desarrollo de estrategias de manejo fitosanitario más eficientes y focalizadas, orientadas a la mitigación del impacto de *L. theobromae* y a la reducción de las pérdidas económicas en las plantaciones de cacao.

**Palabras clave:** Identificación molecular; hongo fitopatógeno; *Lasiodiplodia theobromae*; mazorca negra; cacao CCN-51.

Abstract

Cocoa (*Theobroma cacao* L.) represents a strategic component of Ecuador's agricultural economy, particularly in the province of Los Ríos, where the canton of Quevedo is positioned as one of the main production areas. However, crop productivity is severely affected by phytopathological diseases, among which *Lasiodiplodia theobromae* stands out as a fungus associated with high-impact disorders such as witches' broom and machete disease. These diseases cause significant losses in yield and quality, directly compromising producers' profitability and the competitiveness of Ecuadorian cocoa in the international market. The objective of this study was the molecular identification of *L. theobromae* in CCN-51 cocoa clone plantations. The methodology included genomic DNA extraction, polymerase chain reaction (PCR) amplification of specific DNA regions, and sequencing of the amplicons obtained after agarose gel electrophoresis. The results conclusively confirmed the presence of the pathogen in the analyzed tissues. In addition, through the application of Koch's postulates, the fungus was successfully isolated, reinoculated, and reisolated, validating its role as the causal agent of the disease. Mycelial growth analysis showed a significant advancement at 42 hours of incubation, while evaluations of the peduncle and apex of the pods revealed greater susceptibility in specific fruit areas. These findings provide a technical basis for the development of more efficient and targeted phytosanitary management strategies aimed at mitigating the impact of *L. theobromae* and reducing economic losses in cocoa plantations.

**Keywords:** Molecular identification; phytopathogenic fungus; *Lasiodiplodia theobromae*; black pod disease; CCN-51 cocoa.

## Introducción

El cacao (*Theobroma cacao* L.) constituye uno de los cultivos de mayor importancia económica, social y ambiental en las regiones tropicales, desempeñando un papel fundamental en los medios de vida de miles de pequeños y medianos productores (Vinci et al., 2024). A nivel global, la demanda sostenida de cacao y sus derivados ha impulsado la intensificación de los sistemas de producción, lo que a su vez ha incrementado la presión de factores bióticos que limitan el rendimiento y la calidad del cultivo (Kongor et al., 2024). En el caso del Ecuador, reconocido como uno de los principales productores y exportadores de cacao fino y de aroma, el cultivo representa un eje estratégico del sector agrícola, especialmente en provincias como Los Ríos, donde el cantón Quevedo se consolida como una zona de alta productividad (Wang et al., 2023).

Dentro de los sistemas comerciales, el clon CCN-51 se ha difundido ampliamente debido a su elevada capacidad productiva, tolerancia relativa a condiciones ambientales adversas y estabilidad en el rendimiento. (Jaimez et al., 2022). No obstante, esta ventaja agronómica se ve contrarrestada por su susceptibilidad a diversas enfermedades fitopatológicas que afectan directamente la sanidad del fruto. (Fuertes-Mendizábal et al., 2023), entre ellas, una enfermedad conocida como mazorca negra se destaca como una de las principales limitantes de la producción de cacao, debido a su capacidad para provocar pudriciones extensas, caída prematura de frutos y pérdidas económicas significativas. (Kongor et al., 2024). Diversas investigaciones han señalado a *Lasiodiplodia theobromae* como uno de los hongos fitopatógenos asociados a la mazorca negra y a otras enfermedades de importancia en cacao, tales como la escoba de bruja y el mal del machete. (Huaman-Pilco et al., 2024).

---

Este hongo pertenece a un complejo de especies caracterizadas por su comportamiento oportunista, elevada agresividad y rápida colonización de tejidos vegetales, especialmente bajo condiciones de alta humedad y estrés fisiológico de la planta. (Tamizi et al., 2022), su amplia distribución geográfica y capacidad de sobrevivencia en restos vegetales dificultan su manejo y favorecen su persistencia en los sistemas productivos. (Rochetti et al., 2020) La identificación precisa del agente causal constituye un paso crítico para el diseño de estrategias de manejo fitosanitario efectivas. (Zhu et al., 2020).

Los métodos tradicionales basados en la observación de características morfológicas y culturales presentan limitaciones importantes debido a la plasticidad fenotípica del hongo y a la similitud con otros patógenos del complejo de pudriciones del cacao.(Fan et al., 2020) En este contexto, las herramientas de diagnóstico molecular, especialmente aquellas fundamentadas en la amplificación y secuenciación de regiones específicas del ADN mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), han demostrado ser técnicas robustas, reproducibles y altamente confiables para la correcta identificación de patógenos fúngicos.(Montgomery et al., 2021).

Sin embargo, la enfermedad de mazorca negra no siempre responde a un único agente causal, diversos estudios han señalado que esta patología puede formar parte de un complejo de pudrición del fruto, en el cual diferentes patógenos pueden intervenir de manera simultánea o secuencial.(Vieira et al., 2021) Dentro de este contexto, Lasiodiplodia theobromae ha sido reportado como un hongo oportunista capaz de colonizar tejidos debilitados o previamente afectados, contribuyendo a la progresión del daño y acelerando el deterioro del fruto. En consecuencia, el presente estudio tiene como objetivo la identificación molecular del hongo causante de la enfermedad de mazorca negra en cultivos de cacao clon CCN-51. Los resultados obtenidos contribuyen a una mejor comprensión de

---

la etiología de la enfermedad y proporcionan información científica relevante para el fortalecimiento de programas de monitoreo, prevención y manejo integrado, orientados a reducir el impacto fitosanitario y las pérdidas económicas asociadas a esta patología en los sistemas de producción cacaotera.

### **Métodos y Materiales**

#### Identificación molecular mediante secuenciación de la región ITS

El ADN genómico de los aislados fúngicos fue extraído a partir de micelio fresco utilizando un protocolo basado en CTAB, que incluyó disrupción mecánica del tejido, lisis celular, extracción con cloroformo y precipitación con etanol. El ADN obtenido fue resuspendido en agua ultrapura y almacenado a  $-20^{\circ}\text{C}$  para su posterior análisis.

La amplificación de la región ITS (Internal Transcribed Spacer) del ADN ribosomal se realizó mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR), empleando los primers universales ITS1 e ITS4. Las condiciones de amplificación incluyeron ciclos de desnaturalización, alineamiento y extensión, siguiendo protocolos estándar para hongos filamentosos.

Los productos de PCR fueron verificados mediante electroforesis en gel de agarosa al 1%, utilizando un marcador de peso molecular como referencia para confirmar la amplificación del fragmento esperado.

Posteriormente, los amplicones fueron purificados y sometidos a secuenciación mediante el método de Sanger en un servicio especializado. Las secuencias obtenidas fueron editadas y ensambladas utilizando el software MEGA, eliminando regiones de baja calidad para obtener secuencias consenso confiables.

---

La identificación taxonómica de los aislados se realizó mediante comparación de las secuencias obtenidas con bases de datos públicas utilizando la herramienta BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) del NCBI. La asignación de identidad se basó en los porcentajes de similitud con secuencias de referencia previamente reportadas.

#### Caracterización morfológica

La caracterización morfológica de los aislados fúngicos se realizó mediante la evaluación de características macroscópicas y microscópicas en cultivos obtenidos en condiciones *in vitro*.

Para la caracterización macroscópica, los aislados fueron cultivados en medio Potato Dextrose Agar (PDA) e incubados a  $25 \pm 2$  °C bajo condiciones controladas. Durante el periodo de incubación, se registraron características de la colonia tales como color, textura, patrón de crecimiento y presencia de estructuras reproductivas visibles, mediante observación directa.

Para el análisis microscópico, se tomaron fragmentos del micelio en crecimiento activo y se prepararon montajes *in fresco* sobre portaobjetos utilizando una gota de agua destilada estéril. Las observaciones se realizaron con microscopio óptico, evaluando la morfología de estructuras fúngicas como conidios e hifas. Se analizaron parámetros como forma, tamaño relativo, coloración, presencia de septos y tipo de ramificación.

Adicionalmente, se examinó la organización del micelio mediante la observación de la disposición y densidad de las hifas, con el fin de describir patrones de agregación y crecimiento del hongo bajo condiciones de cultivo.

#### Amplificación de la región ITS

---

La amplificación de la región ITS (Internal Transcribed Spacer) del ADN ribosomal se realizó mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR) a partir del ADN genómico previamente extraído de los aislados fúngicos.

La reacción de PCR se llevó a cabo utilizando los primers universales ITS1 e ITS4, específicos para la amplificación de regiones ITS en hongos. Las condiciones de amplificación incluyeron ciclos de desnaturalización, alineamiento y extensión, siguiendo protocolos estándar para hongos filamentosos.

Los productos de PCR fueron separados mediante electroforesis en gel de agarosa al 1%, utilizando un marcador de peso molecular como referencia para la estimación del tamaño de los fragmentos amplificados. El gel fue visualizado bajo luz ultravioleta tras la tinción correspondiente.

Se incluyó un control negativo en la reacción de PCR para verificar la ausencia de contaminación durante el procedimiento.

#### Identificación molecular mediante secuenciación

La identificación molecular de los aislados fúngicos se realizó mediante la secuenciación de la región ITS (Internal Transcribed Spacer) del ADN ribosomal, a partir de los productos previamente amplificados por PCR.

Los amplicones obtenidos fueron purificados utilizando métodos estándar para la eliminación de primers, nucleótidos libres y otros contaminantes. Posteriormente, las muestras fueron enviadas a un servicio especializado para su secuenciación mediante el método de Sanger.

---

Las secuencias obtenidas fueron editadas y ensambladas para generar secuencias consenso, eliminando regiones de baja calidad. Este proceso se llevó a cabo utilizando el software MEGA, el cual permitió la visualización, edición y alineamiento de las secuencias.

La identificación taxonómica se realizó mediante la comparación de las secuencias consenso con bases de datos públicas utilizando la herramienta BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) del National Center for Biotechnology Information (NCBI). La asignación de identidad se basó en los niveles de similitud con secuencias de referencia previamente reportadas.

#### Ensayo de patogenicidad

La patogenicidad de los aislados fúngicos fue evaluada mediante inoculación artificial en frutos de cacao (*Theobroma cacao* L., clon CCN-51) en condiciones controladas.

Se seleccionaron mazorcas en estado de maduración incipiente, las cuales fueron previamente lavadas y desinfectadas superficialmente con soluciones de hipoclorito de sodio y alcohol, seguido de enjuague con agua estéril. Posteriormente, se realizaron heridas superficiales mediante raspados circulares en dos zonas del fruto: el pedúnculo y el ápice.

En cada punto de inoculación se colocó un fragmento de micelio activo proveniente de cultivos puros del hongo, utilizando condiciones asépticas dentro de una cabina de flujo laminar. Las mazorcas inoculadas fueron colocadas individualmente en bolsas plásticas con papel o toallas humedecidas con agua destilada estéril, con el fin de mantener alta humedad relativa y favorecer el desarrollo del patógeno.

Los frutos fueron incubados bajo condiciones ambientales controladas y se realizaron evaluaciones periódicas para registrar el desarrollo de síntomas. La severidad

---

de la infección se determinó en función de la progresión de las lesiones necróticas en los tejidos inoculados.

Para el análisis experimental, se emplearon réplicas biológicas por tratamiento, y los datos obtenidos fueron utilizados para comparar la capacidad patogénica entre los diferentes aislados fúngicos.

### **Análisis de resultados**

El crecimiento micelial de *Lasioidiplodia* aislada de frutos de cacao se evaluó durante un período de 42 h, registrándose incrementos progresivos del diámetro de la colonia en los tres tratamientos o aislamientos analizados (A, B y C) (Figura 1). En todos los casos, se observó una fase inicial de latencia caracterizada por un crecimiento mínimo o nulo durante las primeras 12 h de incubación.

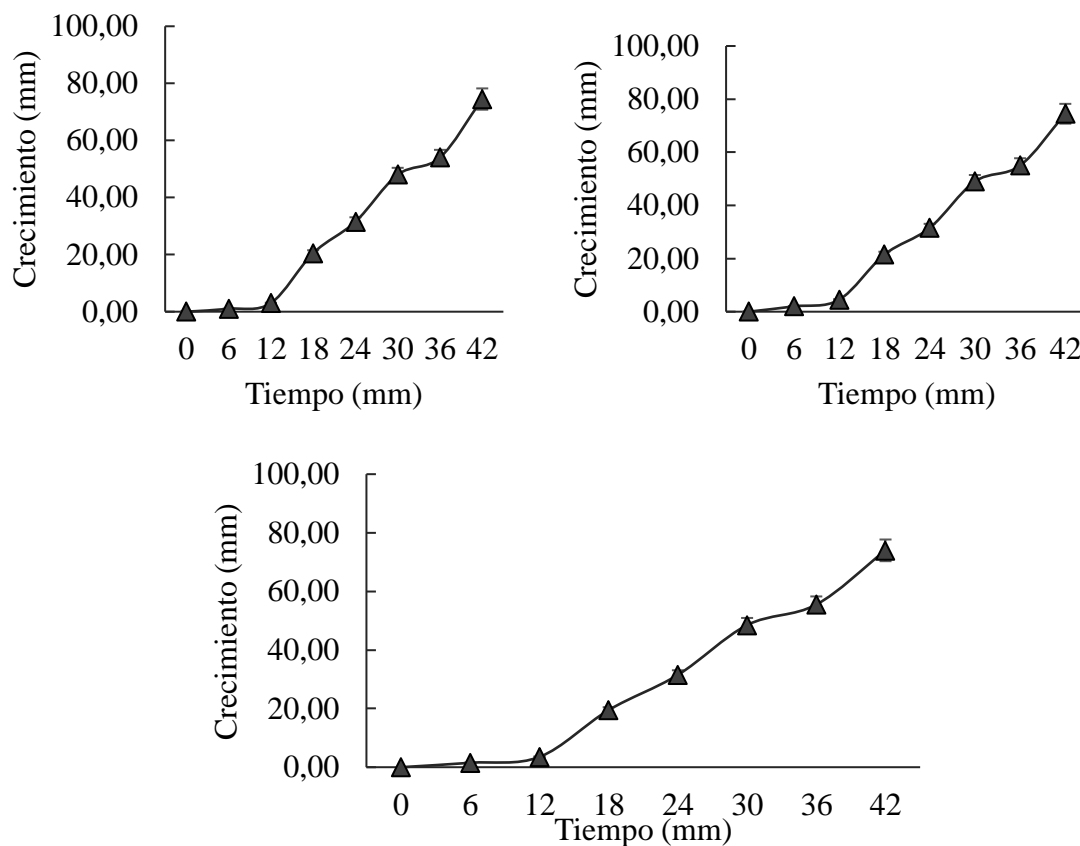
A partir de las 18 h, los tres aislamientos mostraron un incremento sostenido en el crecimiento micelial, evidenciando el inicio de la fase exponencial. En el aislamiento A, el crecimiento aumentó de manera marcada entre las 18 y 30 h, alcanzando aproximadamente 50 mm, y continuó incrementándose hasta registrar valores cercanos a 75 mm a las 42 h. Un patrón similar fue observado en el aislamiento B, aunque con un crecimiento ligeramente inferior durante los primeros intervalos, alcanzando aproximadamente 70–72 mm al final del período evaluado.

El aislamiento C presentó un comportamiento comparable, aunque con una tasa de crecimiento inicial ligeramente más lenta hasta las 12 h. Sin embargo, entre las 18 y 42 h mostró un incremento constante, alcanzando valores finales cercanos a 73–75 mm. En los tres aislamientos, el crecimiento micelial evidenció una tendencia lineal durante la fase activa, con variaciones menores entre curvas.

---

En general, los resultados indican que *Lasiodiplodia* presenta una rápida capacidad de colonización en condiciones controladas, alcanzando diámetros superiores a 70 mm en un lapso inferior a 48 h, lo que confirma su carácter agresivo y su potencial fitopatógeno en tejidos de cacao.

**Figura 1.** Crecimiento micelial de *Lasiodiplodia theobromae* aislada de frutos de cacao (*Theobroma cacao* L.) durante un período de incubación de 42 h. Los paneles A, B y C representan tres aislamientos independientes del hongo, evaluados mediante la medición del diámetro de la colonia (mm) a intervalos de 6 h. Los valores corresponden a la media  $\pm$  error estándar.



La caracterización morfológica del aislado fúngico reveló rasgos macro y microscópicos consistentes con especies del género *Lasiodiplodia* (Figura 2). A nivel

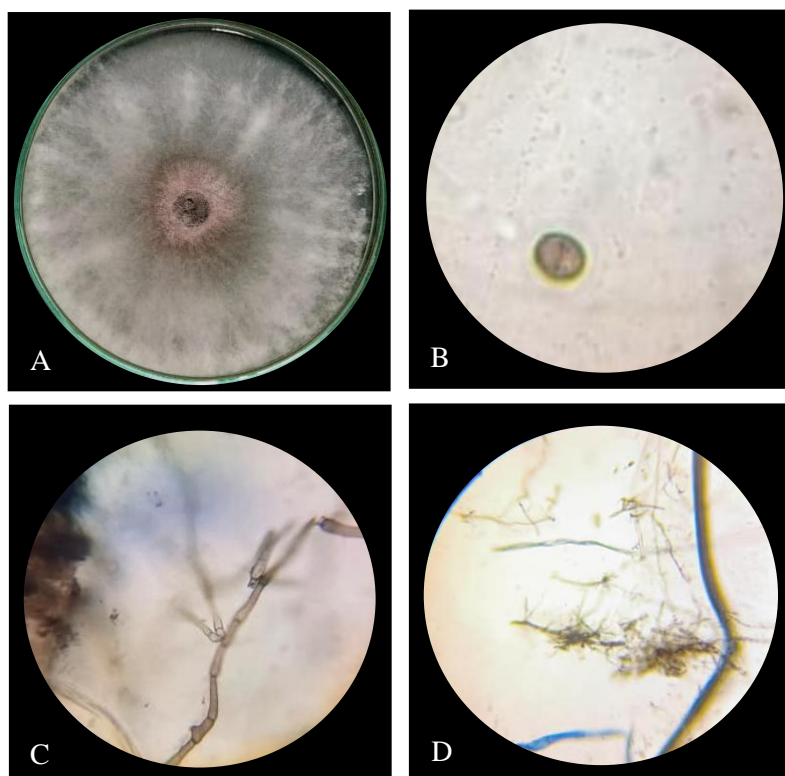
macroscópico, la colonia desarrollada en medio de cultivo presentó un crecimiento radial rápido, con micelio abundante, algodonoso y de coloración inicialmente blanca, que progresó hacia tonalidades grisáceas con el tiempo. Se observó una zona central de pigmentación más oscura, con un patrón concéntrico bien definido, característico de este género (Figura 2-A).

El análisis microscópico permitió identificar estructuras reproductivas y vegetativas típicas del hongo. Las esporas observadas fueron predominantemente ovoides a elipsoidales, de pared lisa y contornos bien definidos, con una coloración hialina a ligeramente pigmentada, compatibles con conidios jóvenes de *Lasiodiplodia* (Figura 2-B). Las hifas presentaron un crecimiento septado, de paredes lisas y ramificación irregular, mostrando un diámetro relativamente uniforme a lo largo de su extensión. En varias observaciones se evidenció la presencia de septos bien definidos, lo que confirma la naturaleza filamentosa y organizada del micelio (Figura 2-C).

Asimismo, se observó una densa agrupación de hifas formando el micelio, con entrelazamiento de filamentos y zonas de mayor compactación, lo que refleja una alta capacidad de colonización del sustrato bajo condiciones *in vitro* (Figura 2-D).

---

**Figura 2.** Caracterización morfológica macro y microscópica de *Lasiodiplodia theobromae* aislada de cacao (*Theobroma cacao* L.). (A) Morfología macroscópica de la colonia en medio de cultivo, mostrando crecimiento radial y pigmentación central característica. (B) Espora (conidio) observada al microscopio óptico. (C) Hifas septadas con ramificación irregular. (D) Agrupación de hifas formando el micelio, evidenciando una densa colonización del sustrato.



Amplificación de la región ITS

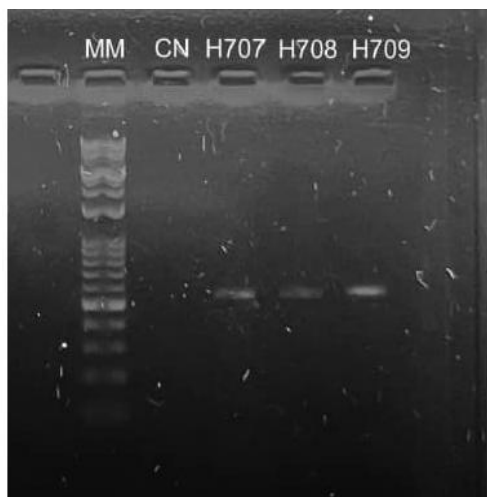
La amplificación de la región ITS del ADN ribosomal se realizó mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR) en tres muestras fúngicas aisladas de cacao. Los productos de amplificación fueron visualizados mediante electroforesis en gel de agarosa, utilizando un marcador de peso molecular (MM) como referencia (Figura 3).

En las tres muestras analizadas (H707, H708 y H709) se observó la presencia de bandas definidas y de intensidad comparable, localizadas en una región consistente con el

tamaño esperado para la región ITS en hongos fitopatógenos. La ausencia de bandas inespecíficas o arrastre en el gel indica una amplificación específica y eficiente del fragmento objetivo.

El control negativo (CN) no mostró señal de amplificación, lo que confirma la ausencia de contaminación durante el proceso de PCR y valida la confiabilidad de los resultados obtenidos. La consistencia en el patrón de bandas entre las tres muestras sugiere una alta homogeneidad genética en la región ITS analizada.

**Figura 3.** *Amplificación de la región ITS del ADN ribosomal mediante PCR en aislados fúngicos de cacao. MM: marcador de peso molecular; CN: control negativo; H707, H708 y H709: muestras fúngicas analizadas. Se observa la presencia de bandas específicas y de tamaño esperado en las tres muestras, confirmando la amplificación exitosa de la región ITS.*



Identificación molecular por secuenciación

La identificación molecular de los aislados fúngicos se realizó mediante la secuenciación de la región ITS del ADN ribosomal, obtenida a partir de los productos de amplificación por PCR. Las secuencias generadas presentaron longitudes comprendidas

---

entre 475 y 544 pb, con valores de calidad elevados, superiores al 98 % en todas las muestras analizadas (Tabla 1).

El análisis de similitud mediante comparación con bases de datos de referencia permitió identificar a los tres aislados como *Lasiodiplodia theobromae*, con porcentajes de identidad que oscilaron entre 99,42 % y 99,79 %. El aislado JPH707 mostró una identidad del 99,72 % con la secuencia de referencia KJ677239.1, mientras que JPH708 y JPH709 presentaron identidades del 99,42 % y 99,79 %, correspondientes a los números de acceso OQ132550.1 y MK813953.1, respectivamente.

La consistencia de los resultados entre los tres aislados, tanto en longitud de secuencia como en porcentaje de identidad, confirma la asignación taxonómica de los mismos a *L. theobromae*. Estos hallazgos validan la identificación molecular del patógeno asociado a la enfermedad de mazorca negra en cacao, respaldando los resultados obtenidos mediante la caracterización morfológica y la amplificación específica de la región ITS.

**Tabla 1.** Resultados de la identificación molecular por secuenciación de la región ITS del ADN ribosomal en aislados fúngicos de cacao (*Theobroma cacao* L.). Se indican el código de la muestra, longitud de la secuencia (pb), calidad de la lectura, organismo identificado, fragmento analizado, porcentaje de identidad y número de acceso de referencia en bases de datos.

Código	Longitud	Calidad	Organismo	Fragmento	% de identidad	N de accesión
JPH707	511	98,8	<i>L. Theobromae</i>	ITS	99,72	KJ677239.1
JPH708	544	98,0	<i>L. Theobromae</i>	ITS	99,42	OQ132550.1
JPH709	475	99,2	<i>L. Theobromae</i>	ITS	99,79	MK813953.1

El ensayo de patogenicidad reveló diferencias significativas en el nivel de infección causado por las cepas evaluadas de *Lasiodiplodia theobromae* (Figura X). La cepa JPH709 presentó el mayor porcentaje de infección, alcanzando valores cercanos al 100 %, y se diferenció estadísticamente de las cepas JPH707 y JPH708, de acuerdo con el análisis comparativo realizado ( $p < 0.05$ ).

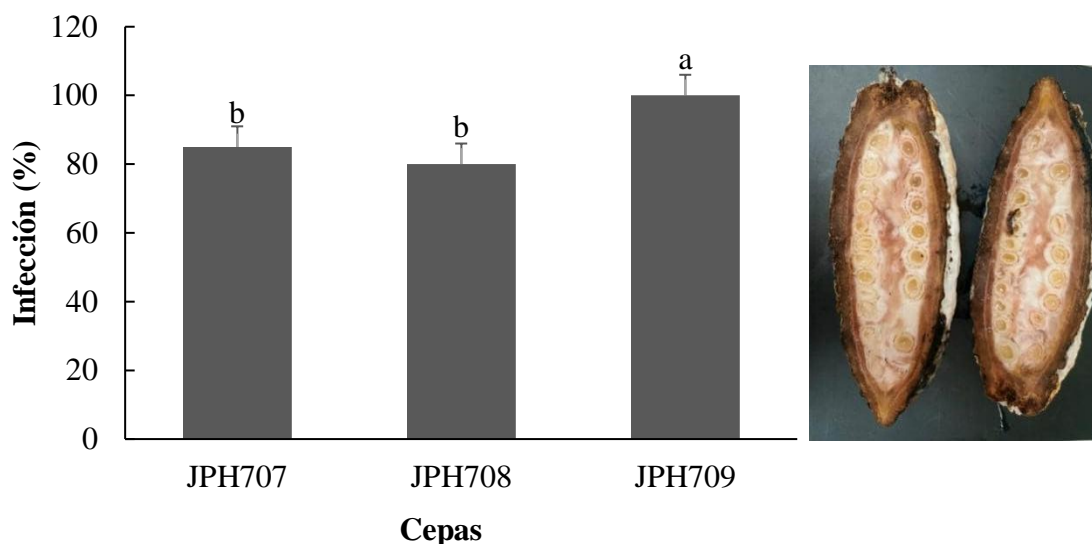
Las cepas JPH707 y JPH708 mostraron porcentajes de infección inferiores, con valores aproximados del 85 % y 80 %, respectivamente, sin diferencias significativas entre ellas, como lo indica la misma letra estadística asignada en la figura. Estos resultados evidencian una variabilidad en el grado de agresividad entre las cepas analizadas, a pesar de haber sido identificadas molecularmente como *L. theobromae*.

A pesar de que las tres cepas fueron identificadas molecularmente como *L. theobromae*, las diferencias observadas en el nivel de infección sugieren la existencia de variabilidad intraespecífica en la capacidad patogénica del hongo. Este comportamiento indica que la severidad de la enfermedad no depende únicamente de la presencia del patógeno, sino también del aislado específico involucrado.

La capacidad patogénica de las tres cepas evaluadas, siendo JPH709 la más virulenta bajo las condiciones experimentales. Este comportamiento respalda los resultados obtenidos en la caracterización morfológica y molecular, y refuerza el papel de *L. theobromae* como agente causal de la enfermedad de mazorca negra en cacao.

---

**Figura 4.** Porcentaje de infección causado por tres cepas de *Lasiodiplodia theobromae* (JPH707, JPH708 y JPH709) en el ensayo de patogenicidad. Las barras representan la media  $\pm$  error estándar. Letras diferentes sobre las barras indican diferencias significativas entre cepas ( $p < 0.05$ ).



Este patrón sugiere que la infección no ocurre de manera homogénea en todo el fruto, sino que existen zonas específicas que podrían actuar como puntos preferenciales de entrada del patógeno. La susceptibilidad diferencial observada en el pedúnculo y el ápice indica que la interacción hospedero-patógeno presenta una dinámica espacial, posiblemente asociada a características anatómicas o fisiológicas del tejido.

## Discusión

El crecimiento micelial de *Lasiodiplodia* sigue un patrón típico de hongos filamentosos fitopatógenos cuando se desarrollan bajo condiciones controladas (Wehmeier et al., 2020). La fase inicial de latencia responde principalmente a un período de adaptación fisiológica del hongo al nuevo sustrato, durante el cual ocurre la activación metabólica, la hidratación de las estructuras celulares y la síntesis de enzimas necesarias para la degradación y asimilación de nutrientes disponibles en el medio de cultivo. (Steinberg et al.,

2017). Durante esta etapa, la actividad celular se concentra en la reorganización interna más que en la expansión radial del micelio. (Tong et al., 2025). Posteriormente, el inicio de la fase exponencial de crecimiento está asociado a una alta eficiencia en la absorción de nutrientes y a una intensa actividad biosintética, en esta fase, las hifas apicales presentan una rápida elongación debido a la expansión de la pared celular y a la continua división nuclear, lo que permite una colonización acelerada del sustrato. (Wehmeier et al., 2020). Este comportamiento es característico de *Lasiodiplodia*, un hongo oportunista con elevada plasticidad metabólica y capacidad de respuesta rápida a condiciones favorables. (Rochetti et al., 2020). Las características morfológicas observadas en especies del género *Lasiodiplodia* responden a adaptaciones estructurales y fisiológicas propias de hongos fitopatógenos con elevada capacidad de colonización y supervivencia. (Pulighe et al., 2019).

A nivel macroscópico, el crecimiento radial rápido y la formación de un micelio abundante y algodonoso reflejan una alta actividad metabólica y una eficiente exploración del sustrato. (Li et al., 2021). La transición progresiva de coloraciones claras a tonos más oscuros está asociada a la acumulación de melanina y otros compuestos fenólicos en las hifas, los cuales cumplen funciones protectoras frente a estrés ambiental, radiación y desecación. (Wątył et al., 2021).

La presencia de zonas centrales más pigmentadas y patrones concéntricos en la colonia está vinculada a cambios fisiológicos relacionados con la edad del micelio, gradientes de nutrientes y procesos de diferenciación celular. (Yamazaki et al., 2020). Estos patrones son comunes en *Lasiodiplodia* y se consideran indicadores de su capacidad para regular el crecimiento en función de las condiciones del entorno. (Singhal et al., 2021). A nivel microscópico, la producción de conidios ovoides a elipsoidales, con paredes lisas y bien definidas, responde a estrategias de dispersión eficientes, facilitando la propagación del hongo en el ambiente y su establecimiento en nuevos hospedadores. Las hifas septadas

---

y ramificadas permiten una distribución interna eficiente de nutrientes y orgánulos, así como una mayor estabilidad estructural del micelio. (Zhang et al., 2021). La formación de agregados densos de hifas, que constituyen el micelio, favorece la colonización rápida del sustrato y la penetración en tejidos vegetales, este entramado filamentoso incrementa la superficie de contacto con el hospedero, optimiza la secreción de enzimas hidrolíticas y contribuye al comportamiento agresivo característico de *Lasiodiplodia* como patógeno de cacao. (Bernardo et al., 2020). La región ITS (Internal Transcribed Spacer) del ADN ribosomal es uno de los marcadores moleculares más utilizados para la identificación taxonómica de hongos, debido a su combinación de regiones altamente conservadas y segmentos variables. (Painset et al., 2019) Esta característica permite discriminar de manera confiable entre especies estrechamente relacionadas, manteniendo al mismo tiempo una amplificación robusta mediante PCR utilizando cebadores universales. (Xu et al., 2020).

La secuenciación de los amplicones ITS proporciona fragmentos de longitud suficiente para realizar comparaciones precisas con secuencias depositadas en bases de datos públicas, como GenBank. (Debray et al., 2022). Los altos valores de calidad de lectura obtenidos en este tipo de análisis reflejan una amplificación específica y una secuenciación adecuada, lo que reduce la probabilidad de errores en la asignación taxonómica. (Jain et al., 2018). El análisis de similitud basado en porcentajes elevados de identidad con secuencias de referencia constituye un criterio ampliamente aceptado para la identificación a nivel de especie en hongos fitopatógenos. (Schoch et al., 2012). En el caso del género *Lasiodiplodia*, valores de identidad superiores al 99 % en la región ITS son considerados indicativos de una correspondencia taxonómica confiable, debido a la baja variabilidad intraespecífica reportada para este marcador. (W. Zhang et al., 2021).

---

La patogenicidad de *Lasiodiplodia theobromae* está asociada a un conjunto de mecanismos fisiológicos y bioquímicos que le permiten infectar, colonizar y degradar los tejidos del hospedero de manera eficiente, por ende este hongo es considerado un patógeno oportunista con alta capacidad de infección, especialmente en frutos y tejidos sometidos a estrés fisiológico, heridas mecánicas o condiciones ambientales favorables como alta humedad y temperatura. (Mohd Khairlani et al., 2020). La variabilidad en los niveles de infección observada entre distintas cepas de *L. theobromae* puede explicarse por diferencias intrínsecas en factores de virulencia, tales como la velocidad de crecimiento micelial, la producción de enzimas hidrolíticas (celulasas, pectinasas y ligninasas) y la síntesis de metabolitos secundarios con actividad fitotóxica. Estos compuestos facilitan la degradación de la pared celular vegetal, aceleran la maceración de los tejidos y favorecen la progresión de la enfermedad. (DeVries et al., 2020).

Adicionalmente, la capacidad del hongo para producir melanina y otros pigmentos protectores contribuye a su tolerancia frente a respuestas defensivas del hospedero y a condiciones ambientales adversas. (Osiewacz & Schürmanns, 2021). La eficiencia en la adhesión y penetración de las hifas, junto con una rápida colonización intercelular, permite al patógeno establecer infecciones severas en un corto período de tiempo. (Naveed et al., 2020).

---

## Referencias bibliográficas

- Kongor, J. E., Owusu, M., & Oduro-Yeboah, C. (2024). Cocoa production in the 2020s: challenges and solutions. *CABI Agriculture and Bioscience*, 5(1). <https://doi.org/10.1186/s43170-024-00310-6>
- Vinci, G., Ruggeri, M., Gobbi, L., & Savastano, M. (2024). Social Life Cycle Assessment of cocoa production: Evidence from ivory coast and Ghana. *Resources*, 13(10), 141. <https://doi.org/10.3390/resources13100141>
- Wang, J., Zhao, J., Nie, S., Xie, M., & Li, S. (2023). MALDI mass spectrometry in food carbohydrates analysis: A review of recent researches. *Food Chemistry*, 399(133968), 133968. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.133968>
- Jaimez, R. E., Barragan, L., Fernández-Niño, M., Wessjohann, L. A., Cedeño-García, G., Sotomayor Cantos, I., & Arteaga, F. (2022). *Theobroma cacao* L. cultivar CCN 51: a comprehensive review on origin, genetics, sensory properties, production dynamics, and physiological aspects. *PeerJ*, 10(e12676), e12676. <https://doi.org/10.7717/peerj.12676>
- Fuertes-Mendizábal, T., Salcedo, I., Huérfano, X., Riga, P., Estavillo, J. M., Ávila Blanco, D., & Duñabeitia, M. K. (2023). Mealworm frass as a potential organic fertilizer in synergy with PGP-based biostimulant for lettuce plants. *Agronomy (Basel, Switzerland)*, 13(5), 1258. <https://doi.org/10.3390/agronomy13051258>
- Kongor, J. E., Owusu, M., & Oduro-Yeboah, C. (2024). Cocoa production in the 2020s: challenges and solutions. *CABI Agriculture and Bioscience*, 5(1). <https://doi.org/10.1186/s43170-024-00310-6>
- Huaman-Pilco, J., Huaman-Pilco, Á. F., Hernández-Díaz, E., Oliva-Cruz, S. M., & Díaz-Valderrama, J. R. (2024). Dieback and pod rot caused by *Lasiodiplodia theobromae* and *L. iraniensis* in native accessions of cacao (*Theobroma cacao*) from Amazonas, Peru. *Indian Phytopathology*. <https://doi.org/10.1007/s42360-024-00771-9>
- Tamizi, A.-A., Mat-Amin, N., Weaver, J. A., Olumakaiye, R. T., Akbar, M. A., Jin, S., Bunawan, H., & Alberti, F. (2022). Genome sequencing and analysis of *Trichoderma* (Hypocreaceae) isolates exhibiting antagonistic activity against the papaya dieback pathogen, *Erwinia mallotivora*. *Journal of Fungi (Basel, Switzerland)*, 8(3), 246. <https://doi.org/10.3390/jof803024>
- Rochetti, V. P., Rollin-Pinheiro, R., de Oliveira, E. B., Xisto, M. I. D. da S., & Barreto-Bergter, E. (2020). Glucosylceramide plays a role in fungal germination, lipid raft organization and biofilm adhesion of the pathogenic fungus *Scenedosporium aurantiacum*. *Journal of Fungi (Basel, Switzerland)*, 6(4), 345. <https://doi.org/10.3390/jof6040345>
- Zhu, F., Zhu, P.-X., Xu, F., Che, Y.-P., Ma, Y.-M., & Ji, Z.-L. (2020). Alpha-momorcharin enhances *Nicotiana benthamiana* resistance to tobacco mosaic virus infection through modulation of reactive oxygen species. *Molecular Plant Pathology*, 21(9), 1212–1226. <https://doi.org/10.1111/mpp.12974>
- Fan, X. L., Bezerra, J. D. P., Tian, C. M., & Crous, P. W. (2020). *Cytospora* (Diaporthales)
-

in China. *Persoonia*, 45(1), 1–45. <https://doi.org/10.3767/persoonia.2020.45.0>

- Montgomery, J. S., Giacomini, D. A., Weigel, D., & Tranel, P. J. (2021). Male-specific Y-chromosomal regions in waterhemp (*Amaranthus tuberculatus*) and Palmer amaranth (*Amaranthus palmeri*). *The New Phytologist*, 229(6), 3522–3533. <https://doi.org/10.1111/nph.17108>
- Vieira, C., Sarmiento-García, A., García, J.-J., Rubio, B., & Martínez, B. (2021). Quality and shelf life of fresh meat from Iberian pigs as affected by a new form of presentation of oleic acid and an organic-acid mix in the diet. *Foods (Basel, Switzerland)*, 10(5), 985. <https://doi.org/10.3390/foods1005098>
- Wehmeier, S., Morrison, E., Plato, A., Raab, A., Feldmann, J., Bedekovic, T., Wilson, D., & Brand, A. C. (2020). Multi trace element profiling in pathogenic and non-pathogenic fungi. *Fungal Biology*, 124(5), 516–524. <https://doi.org/10.1016/j.funbio.2020.03.001>
- Steinberg, G., Peñalva, M. A., Riquelme, M., Wösten, H. A., & Harris, S. D. (2017). Cell biology of hyphal growth. *Microbiology Spectrum*, 5(2), 231–265. <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.FUNK-0034-2016>
- Tong, X., Zhang, D., & Zhu, Z. (2025). Phase separation-regulated fungal growth, sexual development, adaptation and synthetic biology applications. *Journal of Fungi (Basel, Switzerland)*, 11(9), 680. <https://doi.org/10.3390/jof11090680>
- Rochetti, V. P., Rollin-Pinheiro, R., de Oliveira, E. B., Xisto, M. I. D. da S., & Barreto-Bergter, E. (2020). Glucosylceramide plays a role in fungal germination, lipid raft organization and biofilm adhesion of the pathogenic fungus *Scedosporium aurantiacum*. *Journal of Fungi (Basel, Switzerland)*, 6(4), 345. <https://doi.org/10.3390/jof6040345>
- Pulighe, G., Bonati, G., Colangeli, M., Traverso, L., Lupia, F., Altobelli, F., Dalla Marta, A., & Napoli, M. (2019). Predicting streamflow and nutrient loadings in a semi-arid Mediterranean watershed with ephemeral streams using the SWAT model. *Agronomy (Basel, Switzerland)*, 10(1), 2. <https://doi.org/10.3390/agronomy10010002>
- Li, R., Wang, J., Yin, Y., Deng, C., Yang, K., & Wang, Z. (2021). MripacC regulates blastosphere budding and influences virulence of the pathogenic fungus *Metarhizium rileyi*. *Fungal Biology*, 125(8), 596–608. <https://doi.org/10.1016/j.funbio.2021.03.001>
- Wątyły, J., Miller, A., Kozłowski, H., & Rowińska-Żyrek, M. (2021). Peptidomimetics - An infinite reservoir of metal binding motifs in metabolically stable and biologically active molecules. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 217(111386), 111386. <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2021.111386>
- Yamazaki, C., Kashiwa, S., Horiuchi, A., Kasahara, Y., Yamamura, S., & Amachi, S. (2020). A novel dimethylsulfoxide reductase family of molybdenum enzyme, Idr, is involved in iodate respiration by *Pseudomonas* sp. SCT: Idr proteins are involved in iodate respiration. *Environmental Microbiology*, 22(6), 2196–2212. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.14988>
-

- Singhal, S., Roddy, A. B., DiVittorio, C., Sanchez-Amaya, A., Henriquez, C. L., Brodersen, C. R., Fehlberg, S., & Zapata, F. (2021). Diversification, disparification and hybridization in the desert shrubs *Encelia*. *The New Phytologist*, 230(3), 1228–1241. <https://doi.org/10.1111/nph.17212>
- Zhang, W., Chen, J., Fan, Y., Hussain, M., Liu, X., & Xiang, M. (2021). The E3-ligase AoUBR1 in N-end rule pathway is involved in the vegetative growth, secretome, and trap formation in *Arthrotrrys oligospora*. *Fungal Biology*, 125(7), 532–540. <https://doi.org/10.1016/j.funbio.2021.02.003>
- Bernardo, C. das C., Pereira-Junior, R. A., Luz, C., Mascarin, G. M., & Kamp Fernandes, É. K. (2020). Differential susceptibility of blastospores and aerial conidia of entomopathogenic fungi to heat and UV-B stresses. *Fungal Biology*, 124(8), 714–722. <https://doi.org/10.1016/j.funbio.2020.04.003>
- Painset, A., Björkman, J. T., Kiil, K., Guillier, L., Mariet, J.-F., Félix, B., Amar, C., Rotariu, O., Roussel, S., Perez-Reche, F., Brisse, S., Moura, A., Lecuit, M., Forbes, K., Strachan, N., Grant, K., Møller-Nielsen, E., & Dallman, T. J. (2019). LiSEQ - whole-genome sequencing of a cross-sectional survey of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods and human clinical cases in Europe. *Microbial Genomics*, 5(2). <https://doi.org/10.1099/mgen.0.000257>
- Xu, R., Sun, X., Lin, H., Han, F., Xiao, E., Li, B., Qiu, L., Song, B., Yang, Z., & Sun, W. (2020). Microbial adaptation in vertical soil profiles contaminated by an antimony smelting plant. *FEMS Microbiology Ecology*, 96(11). <https://doi.org/10.1093/femsec/fiaa188>
- Debray, R., Socolar, Y., Kaulbach, G., Guzman, A., Hernandez, C. A., Curley, R., Dhond, A., Bowles, T., & Koskella, B. (2022). Water stress and disruption of mycorrhizas induce parallel shifts in phyllosphere microbiome composition. *The New Phytologist*, 234(6), 2018–2031. <https://doi.org/10.1111/nph.17817>
- Jain, C., Rodriguez-R, L. M., Phillippy, A. M., Konstantinidis, K. T., & Aluru, S. (2018). High throughput ANI analysis of 90K prokaryotic genomes reveals clear species boundaries. *Nature Communications*, 9(1), 5114. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-07641-9>
- Schoch, C. L., Seifert, K. A., Huhndorf, S., Robert, V., Spouge, J. L., Levesque, C. A., Chen, W., Fungal Barcoding Consortium, & Fungal Barcoding Consortium Author List. (2012). Nuclear ribosomal internal transcribed spacer (ITS) region as a universal DNA barcode marker for Fungi. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 109(16), 6241–6246. <https://doi.org/10.1073/pnas.1117018109>
- Zhang, W., Groenewald, J. Z., Lombard, L., Schumacher, R. K., Phillips, A. J. L., & Crous, P. W. (2021). Evaluating species in *Botryosphaerales*. *Persoonia*, 46(1), 63–115. <https://doi.org/10.3767/persoonia.2021.46.03>
- Mohd Khairani, N. H., Abdullah, M. Y., & Abdullah, S. (2020). *Thaumatococcus daniellii* phenology and growing degree day requirements under different irradiance and fertiliser levels. *The Annals of Applied Biology*, 176(3), 328–341. <https://doi.org/10.1111/aab.12564>
-

- DeVries, A. E., Kowalski, K. P., & Bickford, W. A. (2020). Growth and Behavior of North American Microbes on *Phragmites australis* Leaves. *Microorganisms*, 8(5), 690. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8050690>
- Osiewacz, H. D., & Schürmanns, L. (2021). A network of pathways controlling cellular homeostasis affects the onset of senescence in *Podospora anserina*. *Journal of Fungi (Basel, Switzerland)*, 7(4), 263. <https://doi.org/10.3390/jof7040263>
- Naveed, Z. A., Wei, X., Chen, J., Mubeen, H., & Ali, G. S. (2020). The PTI to ETI continuum in *Phytophthora*-plant interactions. *Frontiers in Plant Science*, 11, 593905. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.593905>
-