



Primer reporte de *Botrytis cinerea* causante del moho gris en hojas de uvilla en el norte del Ecuador

First report of *Botrytis cinerea* as the causal agent of gray mold on goldenberry leaves in northern Ecuador

Renata Lozada¹, Alexis Quintana¹, Jeniffer Yáñez*

¹Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Facultad de Ciencia Exactas y Naturales, ORCID: 0009-0002-6511-3973; ORCID: 0009-0000-4543-2542; ORCID: 0000-0003-4319-1110

*Autor de correspondencia: jyanez989@puce.edu.ec
DOI: <https://doi.org/10.26807/remcb.v45i2.993>

Como citar este artículo:

Lozada R, Quintana A, Yáñez J. Caracterización de *Botrytis cinerea* causante del moho gris en hojas de uvilla en el norte del Ecuador. 2024. Revista Ecuatoriana de Medicina y Ciencias Biológicas 45(2): 52-59. <https://doi.org/10.26807/remcb.v45i2.993>

Recibido: 29-02-2024

Aceptado: 12-11-2024

Publicado: 26-11-2024

Resumen.- La uvilla (*Physalis peruviana* L.) es una especie vegetal nativa de los Andes y de importancia económica para la región. Sus características organolépticas y propiedades bioactivas han despertado interés en el mercado nacional e internacional. Existen varios organismos como virus, bacterias, nematodos y hongos que provocan enfermedades graves en este cultivo. Estos últimos afectan tanto al cultivo como la post cosecha de uvilla. El moho gris es una enfermedad causada por *Botrytis cinerea*. Este hongo produce manchas foliares redondas de color marrón con cubrimiento de micelio, responsable del aspecto de moho gris. Este hongo tiene la capacidad de provocar debilitamiento general de la hoja hasta la muerte de la planta. Por ello, el objetivo de esta investigación fue identificar a *B. cinerea* en cultivos de uvilla de la zona norte del Ecuador. Se muestrearon varias parcelas ubicadas en la provincia de Imbabura. Los aislados fúngicos obtenidos se identificaron a nivel fenotípico y molecular mediante análisis de la región ITS. Las secuencias se compararon con dos bases de datos donde presentaron una similitud del 100 % para *B. cinerea*. Finalmente, los postulados de Koch confirmaron que *B. cinerea* es el hongo causante del moho gris en hojas de los cultivos de uvilla en Ecuador.

Palabras clave: *Botrytis cinerea*, moho gris, postulados de Koch, fitopatógeno, *Physalis peruviana*.

Abstract.- The goldenberry (*Physalis peruviana* L.) is a species plant native to the Andes and economic important for the region. Due to its organoleptic characteristics and bioactive properties, it has aroused interest in the national and international market. Several organisms such as viruses, bacteria, nematodes and fungal cause serious diseases to the crop. The last affect both the crop growing and post-harvest of goldenberry. Gray mold is the disease caused by *Botrytis cinerea*. Round brown leaf spots covered with mycelium giving the appearance of gray mold characterize this disease. This fungus causes general weakening of the leaf until its death. The objective of this research was to identify *B. cinerea* in goldenberry crops in the northern area of Ecuador. Several plots located in the province of Imbabura were sampled. The fungal isolates obtained were identified phenotypically and by molecular techniques that analyzes the ITS region. Sequences were compared with two databases and showed 100 % similarity for *B. cinerea*. Finally, through Koch's postulates, it was confirmed that *B. cinerea* was the phytopathogenic fungus that causes gray mold in leaves of goldenberry crops in Ecuador.

Keywords: *Botrytis cinerea*, gray mold, Koch postulates, phytopathogen, *Physalis peruviana*.

Introducción

La uvilla (*Physalis peruviana* L.) también conocida como uchuva o baya dorada es una especie vegetal nativa de los Andes. Esta planta se desarrolla, comúnmente, en zonas altas comprendidas entre 1 500 y 3 000 msnm. A lo largo de dos años de vida forma un arbusto perenne que alcanza 1.0 - 1.6 metros mediante un crecimiento simpodial. Las hojas son aterciopeladas con un tamaño comprendido entre 5 y 15 cm de largo y de 4 hasta 10 cm de ancho con forma de corazón. El capuchón o cáliz es ahuecado y está formado por cinco hojas lobuladas con puntas triangulares que protegen al fruto de ambientes extremos, insectos y patógenos. Posee una raíz resistente que puede llegar a medir más de 60 cm de largo y el tallo es verde de textura suave, pero con ligeras vellosidades (Fischer et al. 2014). La uvilla se caracteriza por sus bayas de color amarillo-anaranjado, de piel lisa en forma globular con sabor ligeramente ácido. Entre las propiedades nutricionales del fruto están: fuente de vitamina A, vitamina C, vitaminas del complejo B, pectina y flavonoides (Corrales-Bernal et al. 2015).



Además, se le atribuyen distintas propiedades antibacteriales y antiinflamatorias (Çakir et al. 2014). El cultivo y la comercialización de uvilla es una de las principales fuentes económicas en Ecuador (Moreno-Miranda et al. 2018). La producción de uvilla se destaca en la provincia del Carchi (40%), seguida de Imbabura (28 %) y finalmente Pichincha (6 %), sumando más del 70 % de producción de la fruta en el país (Proecuador 2020). En el 2019, las exportaciones crecieron hacia varios destinos, tanto en Europa como América (Proecuador 2020). Datos del Ministerio de Producción Comercio Exterior, Inversiones y Pesca y el Banco Central del Ecuador indican que en el año 2019 se exportaron alrededor de 208 mil dólares de uvilla fresca y un total de 657 mil dólares de uvilla deshidratada, datos que alientan al sector agrícola reflejando un crecimiento en el promedio anual de 53.1 % en comparación de años anteriores (Proecuador 2020).

Los cultivos de uvilla presentan varios problemas fisiológicos relacionados con virus, bacterias y nematodos que provocan enfermedades graves en la planta. Los fitopatógenos de origen fúngico afectan durante el crecimiento de las plantas y la postcosecha, comprometiendo el desarrollo de la planta y, por ende, el rendimiento final del cultivo. Las enfermedades fúngicas más comunes en uvilla son la mancha gris producida por *Cercospora* spp. (Paredes, Yáñez y Marcial-Coba 2021), la muerte descendente ocasionada por *Phoma* spp., la marchitez vascular por *Fusarium oxysporum* y el moho gris causado por *Botrytis cinerea* (Díaz, Chaves-Acuña y Yáñez 2019). El moho gris es una enfermedad que provoca necrosis localizada en su estado inicial y conforme avanza llega a causar la pudrición de las hojas, flores y frutos, acompañado de un cubrimiento externo de micelio. El mismo se esparce con rapidez por toda la planta logrando su pudrición total (Jakobija et al. 2020). El hongo *B. cinerea* es considerado un fitopatógeno muy agresivo, se caracteriza por ser un microorganismo necrotrófico que afecta los cultivos de mora, fresa, tomate y a más de 200 plantas cultivables entre las que se encuentra la uvilla (Marín-Chacón et al. 2017). La diseminación es rápida y se da gracias a la presencia de conidios que son estructuras fácilmente distribuidas mediante corrientes de aire, herramientas o lluvia (Chen et al. 2021). Además, tiene la capacidad de permanecer latente en el tejido de hojas jóvenes y cuando la hoja madura, se activa provocando lesiones redondas de color marrón seguido del cubrimiento de micelio gris (Jakobija et al. 2020).

En Colombia, existen mayores estudios acerca de *B. cinerea* presente en *P. peruviana*, pero, su importancia radica en el grave deterioro que provoca en el fruto, lo que impide su comercialización. Por ejemplo, se comprobó la presencia de *B. cinerea* en frutos de uvilla listos para distribución, luego de 30 días con secado del cáliz (Novoa et al. 2006; Catarina 2014). Hasta el momento, en el Ecuador, los reportes son escasos en cuanto al manejo y desarrollo tanto en hojas como en fruto. Por ello, existe un vacío dentro del sector agrícola lo que impide un correcto desarrollo de estrategias para el control fitosanitario y crea una rápida pérdida de tiempo y recursos (Roca-Couso et al. 2021).

El presente estudio tiene como objetivo identificar a *B. cinerea* como causante de la enfermedad moho gris en hojas de uvilla en plantaciones de los Andes de Ecuador. Esta información es requerida como evidencia para la correcta y oportuna identificación de este hongo fitopatógeno. Además, de contribuir con información base para en el control y la actualización del manejo fitosanitario del cultivo de uvilla en el país.

Materiales y Métodos

Área de investigación y muestreo.- El estudio se realizó en parcelas productoras de uvilla (ecotipo manzana) ubicadas en la provincia de Imbabura (0° 15' 25.279" N 78° 20' 22.372" W), mediante muestreo aleatorio estratificado (Hernández y Carpio 2019). Se escogieron 25 plantas por parcela y se seleccionaron las hojas de uvilla que presentaron síntomas propios del moho gris causado por *B. cinerea* (Richards et al. 2021). Las muestras fueron recolectadas en fundas de plástico con cierre hermético y etiquetadas con fecha, hora de recolección y georreferencia. Se trasladaron en cadena de frío (4 °C) hasta el laboratorio de Fitopatología y Control Biológico de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador (PUCE), para su procesamiento en un lapso máximo de 24 horas (Agris 2005).

Aislamiento y purificación del hongo fitopatógeno.- Las muestras fueron previamente lavadas con agua potable para eliminar contaminantes superficiales. Se cortó con un bisturí estéril, pedazos de 5 mm² de las lesiones foliares. Los cortes fueron desinfectados durante un minuto en hipoclorito de sodio al 1 %, seguido de etanol al 70 % por 30 segundos y, por último, dos enjuagues con agua destilada estéril por un minuto (Agris 2005). Los pedazos de hoja se sembraron en cajas Petri con PDA (Papa Dextrosa Agar), suplementado con 80 mg/L de gentamicina para inhibir el crecimiento bacteriano (Morales-Restrepo y Cardona-Castro 2018). Las cajas de Petri se incubaron a temperatura ambiente (23 ± 2 °C) durante siete días hasta obtener colonias típicas de *B. cinerea* (Farrera et al. 2007; Javed et

al. 2017), además, se realizó el cultivo monospórico en medios de cultivo PDA y MEA (Malt Extract Agar; Swart et al. 2001).

Identificación macroscópica y microscópica.- Para la identificación macroscópica se realizó un control cotidiano a los cultivos puros durante 14 días. Los aspectos considerados respecto a la colonia fueron: color, textura, bordes y presencia de esclerocios, características que se compararon con estudios previos (Mamode Ally et al. 2021). El ancho y el largo de 10 esclerocios formados en cultivos con PDA fueron medidos (Plaza et al. 2018). Para la identificación microscópica se utilizaron cajas Petri con PDA de siete días de crecimiento (Farrera et al. 2007). El microcultivo se llevó a cabo en una caja mono Petri de vidrio esterilizada con papel absorbente de base, se añadió una varilla de vidrio sobre el papel para dar elevación al portaobjeto, sobre el que se colocó una lámina de 15 mm² de agar PDA. Con la ayuda de un asa en punta se inocularon conidios en los cuatro lados de la lámina, sobre la que se añadió un cubreobjetos. Adicionalmente, se agregó 1 mL de agua estéril sobre el papel absorbente, para mantener humedad, se selló la caja mono Petri con Parafilm® y se incubó a 23 ± 2 °C durante siete días (Medina et al. 1999). En otro portaobjetos se colocó una gota de agua destilada en el centro y cubrió con el cubreobjeto. Los conidios y los conidióforos fueron las estructuras fúngicas observadas mediante microscopio óptico con aumento total de 400 X. Por último, se midió el tamaño de 50 conidios por cepa (Wang et al. 2011) con la herramienta digital DinoCapture 2.0. Las medidas de los esclerocios (ancho por largo en milímetros) y los conidios (ancho por largo en micras) fueron tomadas durante el crecimiento del hongo en PDA.

Identificación molecular.- El ADN fúngico se extrajo de los aislados que crecieron en PDA por siete días, mediante el kit Wizard® Genomic DNA Purification (Promega 2019). La PCR (reacción en cadena de la polimerasa, por sus siglas en inglés), amplificó la región ITS (Espaciadores Transcritos Internos, por sus siglas en inglés). Los cebadores utilizados fueron ITS-1e ITS-4 (ITS1: 5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3'; ITS4: 5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') (White et al. 1990; Kwon et al. 2011; Fajarningsih 2016). El volumen final de cada reacción fue de 25 µL y los parámetros de amplificación fueron: la desnaturalización inicial a 95 °C durante 1 minuto, seguido por 30 ciclos de desnaturalización durante 1 minuto a 95 °C, el alineamiento de 30 segundos a 55 °C, la elongación por 1 minuto a 72 °C, para concluir la elongación final por 5 minutos a 72 °C. A continuación, se realizó una electroforesis en gel de agarosa al 1.5 % (95 voltios por 60 minutos) (Núñez-Ríos et al. 2013). Los productos de la PCR se enviaron a Macrogen Inc. (Seúl, Corea del Sur) donde fueron purificados y secuenciados por el método de Sanger. Las secuencias resultantes *forward* y *reverse* fueron alineadas con la herramienta informática Clustal W del programa MEGA X (Notte et al. 2021). Se identificó coincidencias de estas secuencias en las bases de datos GenBank del NCBI mediante la herramienta BLAST y en MycoBank (Wang et al. 2011; Gümrükcü et al. 2016).

Postulados de Koch.- Se sembraron 27 plántulas en macetas plásticas con sustrato estéril compuesto de vermiculita (PRO-MIX®) y regadas a capacidad de campo diariamente. Las plantas se mantuvieron en invernadero con una temperatura aproximada de 20 - 25 °C y 70 - 79 % de humedad (Gao et al. 2018). El inóculo se preparó con cinco cepas de *B. cinerea* obtenidas de 14 cajas Petri con agar PDA, dos cajas por cada aislado del hongo fitopatógeno con crecimiento de siete días a 25 °C (Mirzaei et al. 2007). Se cortaron discos de agar de 5 mm de diámetro para inoculación directa (Wang et al. 2011; ÖZer y Bayraktar 2014). La inoculación del patógeno se realizó cuando las plantas presentaron cinco hojas verdaderas. En 12 plantas se colocaron discos de agar con micelio de acuerdo con el tamaño de la hoja (entre 2 o 4), mientras tres plantas control fueron rociadas, únicamente, con agua destilada estéril (Gümrükcü et al. 2016). Las plantas tratadas se cubrieron con fundas de polietileno por 24 horas para mantener alta humedad y favorecer la infección. Al día siguiente, las plantas regresaron al invernadero donde se mantuvo una temperatura de 23 ± 2 °C y humedad relativa alrededor de 90% (Yu et al. 2014). El monitoreo del apareamiento de los síntomas de la enfermedad fue diario. Al presentarse los síntomas típicos en las hojas de uvilla se aisló el patógeno en cajas con medio PDA y se realizó la identificación molecular amplificando la región ITS mediante la metodología descrita anteriormente.

Resultados

Identificación y caracterización morfológica de aislados fúngicos.- Se obtuvieron resultados positivos de la presencia de *B. cinerea* en las parcelas seleccionadas. Los síntomas sospechosos de moho gris en hojas de uvilla se presentaron como pequeñas lesiones redondas de color marrón con una capa de micelio de color crema y un halo amarillo (Figura 1). Del aislamiento y purificación de las muestras foliares se obtuvieron cinco aislados que presentaron características macroscópicas similares a *B. cinerea*. Las

colonias mostraron un crecimiento óptimo en los dos medios de cultivo probados. En PDA presentaron crecimiento micelial moderado, el micelio aéreo con textura esponjosa de color crema en el anverso y coloración gris en el reverso, con una médula blanquecina en el centro de la caja (Figura 1). Los aislados OT05-03, OT05-08, OT05-10, OT05-21 y OT05-25 (códigos internos del laboratorio) desarrollaron conidios a los 14 días de crecimiento y al menos 10 esclerocios de color marrón oscuro - negro, de tamaño irregular, organizados al azar. El aislado OT05-03 no desarrolló esclerocios en ninguno de los medios de cultivo. Mientras que, en MEA se observaron colonias con crecimiento abundante, micelio aéreo esponjoso de color blanco en el anverso y también coloración blanca en el reverso. A los siete días se observó la presencia de conidióforos en el micelio (Figura 1). La descripción microscópica mediante microcultivo permitió observar al menos cinco conidióforos y más de 50 conidios por campo óptico (Figura 1). En general, todos los conidióforos se presentaron rectos y ramificados de color marrón oscuro, los cuales contenían los conidios (forma de racimo de uvas). Los conidios se presentaron unicelulares, ovoides la mayoría hialinos y otros de color marrón oscuro. Los conidios midieron de ancho a partir 6.34 a 9.18 y de largo 5.58 a 8 μm , mientras las medidas de los esclerocios fueron desde 2.75 a 8.7 de ancho, hasta 3.25 a 6.75 mm de largo.

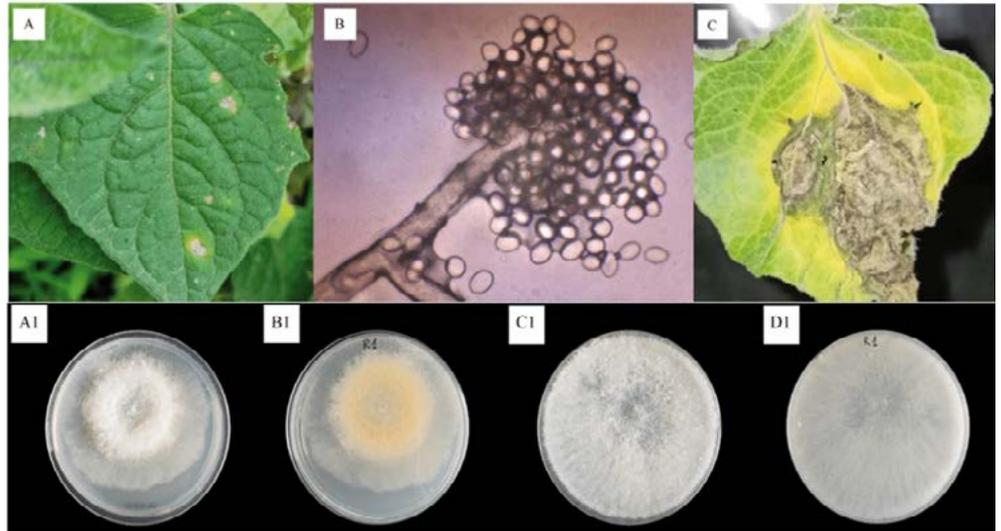


Figura 1. **A)** Hoja de uvilla con manchas de color gris, característica de *Botrytis cinerea* en campo. **B.** Conidióforo con aumento total de 400X. **C.** Marchitamiento general de la hoja a los 18 días después de la inoculación (postulados de Koch). Colonias de *Botrytis cinerea* después de siete días de incubación, en PDA, **A1**, anverso y **B1**, reverso, y en MEA, **C1**, anverso y **D1**, reverso

Identificación molecular.- Los amplicones obtenidos de la PCR presentaron un tamaño de 500 pb según la comparación con la escalera de peso molecular y mediante electroforesis en agarosa al 1.5%. Al comparar las secuencias consenso con las bases de datos del *National Center for Biotechnology Information* (NCBI/ <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) y de Mycobank (<https://www.mycobank.org/>), se obtuvo un porcentaje de cobertura e identidad del 100 % con el hongo fitopatógeno *Botrytis cinerea* (Tabla 1).

Tabla 1. Identificación molecular de las cepas fúngicas aisladas mediante coincidencias de la secuencia de la región ITS en las bases de datos de GenBank (NCBI) y Mycobank

Cepa	Número de acceso de referencia	Porcentaje de cobertura e identidad	Identidad
OT05-03	MK370589.1 (GenBank)	100	<i>Botrytis cinerea</i>
	KX229751.1 (Mycobank)		
OT05-08	MN853356.1 (GenBank)	100	<i>Botrytis cinerea</i>
	MG204872.1 (Mycobank)		
OT05-10	MT422213.1 (GenBank)	100	<i>Botrytis cinerea</i>
	KY984483.1 (Mycobank)		
OT05-21	MT218334.1 (GenBank)	100	<i>Botrytis cinerea</i>
	MG560199.1 (Mycobank)		
OT05-25	MN853683.1 (GenBank)	100	<i>Botrytis cinerea</i>
	MG204872.1 (Mycobank)		

Postulados de Koch.- Los cinco aislados inoculados en las plantas de uvilla provocaron marchitez en las hojas. La infección por disco de agar permitió que todas las cepas presentaran alta patogenicidad, provocando moho gris en el 100 % de las plantas infectadas. En los primeros siete días se observó clorosis alrededor de las heridas de las hojas, eventualmente se desarrollaron manchas redondas de color marrón oscuro. A los 14 días, el micelio cubrió las lesiones y, a los 18 días se produjo la colonización total de la hoja con micelio, lo que resultó en marchitamiento, debilidad extrema y muerte (Figura 1).

Discusión

El género *Botrytis* engloba 35 especies, pero la única especie capaz de infectar a una amplia gama de cultivos y causante del moho gris es *B. cinerea* (Kozhar y Peever 2018). Del total de muestras analizadas, se obtuvieron cinco aislados identificados, molecularmente, como *B. cinerea*. Las hojas presentaron lesiones pequeñas, redondas, de color gris con un borde amarillento (clorosis localizada). Dichos síntomas foliares del moho gris, causados por *B. cinerea* en el cultivo de uvilla, se diferencian de los provocados por otro tipo de hongos fitopatógenos. Las cepas fúngicas que se desarrollaron en medio PDA presentaron micelio aéreo de color crema con textura esponjosa a los siete días, y después de 10 días se obtuvieron tonalidades en gris, con el desarrollo de esclerocios a las dos semanas de crecimiento, similar a lo descrito por Leiva-Mora et al. (2019), en la investigación en fresas (*Fragaria vesca*), donde indican que las colonias del hongo en PDA son de color crema y, posteriormente, cambian a color gris, haciéndose visible la presencia de conidióforos en el micelio. El tamaño de los esclerocios de los aislados obtenidos fue de 2 a 9 mm, resultado que coincidió con los reportados por Erper et al. (2015) quienes obtuvieron medidas de entre 1 y 4 mm por estructura. Los esclerocios son considerados como estructuras importantes de este hongo, debido a que intervienen en la supervivencia de la especie permitiendo la resistencia del hongo a condiciones ambientales extremas (Terrones-Salgado et. al. 2019).

Por otra parte, el crecimiento del hongo en medio MEA presentó esporulación abundante, el micelio fue de textura esponjosa de color blanco. Estas características son muy similares a las obtenidas por Stewart y Long (1987), quienes describen que *B. cinerea* esporula de manera abundante en MEA y señalan que la cantidad de luz que reciben los cultivos no influye en su crecimiento. En consecuencia, al esporular en menor tiempo, la presencia de esclerocios también se identificó antes de las dos semanas. Adicionalmente, este hongo fitopatógeno se caracteriza por crecer de manera óptima en medios de cultivo que cuenten con un pH ácido (Terrones-Salgado et. al. 2019). En cuanto a los caracteres microscópicos, todos los aislados presentaron conidióforos rectos y ramificados de color marrón oscuro. Mientras que los conidios se observaron unicelulares, ovoides, la mayoría hialinos y otros de color marrón oscuro con un tamaño de entre 6.1 a 9.4 μm de ancho x 5.1 a 8.9 μm de largo. Estas características son similares a las presentadas por Pei et al. (2019) donde los conidios se presentaron hialinos a marrón oscuro, ovoides con tamaños que van desde 3.9 a 6.1 μm de ancho x 6.7 a 13.5 μm de largo (promedio 8.5 x 5.7 μm). Así también, coinciden con las características microscópicas reportadas por Apolonio-Rodríguez et al. (2017), donde observaron conidios unicelulares, ovoides, hialinos con medidas de 8-15 μm de ancho x 6-9 μm de largo. Esto permitió identificar que, los conidios de *B. cinerea* evaluados presentaron un rango de tamaño similar.

Tradicionalmente, las características morfológicas como patrón de crecimiento micelial, grado de esporulación, forma de conidios y conidióforos, y especificidad del hospedero, hacen posible distinguir entre las especies de *Botrytis* (Badotti et al. 2017). Sin embargo, no son suficientes para la identificación de especie dentro de este género. En el estudio de Notte et al. (2021) sobre la identificación y caracterización de *B. cinerea*, se sugiere el uso de tres genes codificadores de proteínas nucleares (G3PDH, HSP60 y RPB2) para la identificación de las especies. Estos análisis se deberían llevar a cabo en el caso de que la secuenciación de la región ITS no obtuviera resultados aceptables, lo cual no se presentó en este estudio, por lo que, se identificó a los cinco aislados fúngicos como *B. cinerea* luego de comparaciones en las bases de datos mencionadas anteriormente.

En cuanto a los postulados de Koch, se confirmó que, el hongo aislado es el agente causal de la enfermedad en las hojas de plántulas sanas de uvilla. Estudios demuestran que las vías de penetración del patógeno se logran por heridas (Catarina 2014). La infección por disco de agar logró que los cinco aislados que se utilizaron para inocular las plántulas de uvilla produjeran síntomas. Se observaron lesiones pequeñas circulares de color marrón cubiertas de micelio dando el aspecto de moho gris. Las lesiones se extendieron rápidamente sobre las hojas de las plántulas inoculadas y, eventualmente, se presentó el marchitamiento general. Síntomas similares a los reportados en el estudio realizado por Chen et al. (2021) donde, los resultados de la prueba de patogenicidad con tampones

de micelio en hojas, obtuvieron manchas necróticas de color marrón, y en la etapa más avanzada de la enfermedad reportaron propagación de las lesiones hasta inducir a la marchitez y defoliación de la planta. Wang et al. (2011) describieron los mismos síntomas utilizando el mismo método de inoculación. Al inicio de la infección, reportaron pequeñas manchas de color marrón, que luego se expandieron aumentando su tamaño, siendo visible la presencia de micelio de color gris en las lesiones. Por último, se realizó un re-aislamiento del tejido foliar con síntomas para su identificación y secuenciación, donde se confirmó que el hongo causante del moho gris fue *B. cinerea* cumpliendo así con los postulados de Koch. Dichos hallazgos, resultan comparables con lo obtenido por Terrones-Salgado et al. (2019). Cabe destacar que, los muestreos se realizaron en seis parcelas geográficamente distintas, y se aisló el fitopatógeno únicamente en la parcela ubicada en los andes septentrionales de Ecuador (Guchinguero, Otavalo). Entre los distintos sitios, se evidenció un cambio en el manejo de los cultivos que podría estar ligado a la no presencia de *B. cinerea*. En las parcelas donde no se aisló el patógeno en cuestión se identificó la aplicación de buenas prácticas de agricultura (BPA), entre ellas, un correcto manejo de desechos. Esto impide la formación de estructuras de supervivencia del hongo y, por ende, contaminación del cultivo (Villasanti y Godoy 2012). Por otro lado, se ha descrito que, rangos de humedad situados entre 90 y 100 % favorecen al crecimiento del hongo (Kozha y Peveer 2018; Leiva-Mora et al. 2019). Este particular coincide con lo encontrado en la parcela de la que se aisló *B. cinerea*. A diferencia de los demás sitios que no mostraron a simple vista sistemas de riego implementados. Lo anteriormente descrito, abre la oportunidad de investigaciones que correlacionen y demuestren si las BPA y los distintos porcentajes de humedad inciden o no en la aparición de la enfermedad, severidad e incidencia dentro de un campo de uvillas.

Este estudio reportó por primera vez la presencia de *B. cinerea* en tejido foliar de cultivos de uvilla de la zona norte del Ecuador. Los aislados del fitopatógeno se identificaron mediante análisis fenotípico y molecular. Se confirmó el agente causal de moho gris mediante postulados de Koch. La información obtenida en este estudio servirá como una herramienta para próximas investigaciones relacionadas control biológico o busquen comprender la epidemiología de la enfermedad confirmada en el país.

Agradecimientos

La presente investigación fue financiada por la Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Convocatoria de proyectos de investigación, 2018. El reconocimiento especial a la empresa TERRAFERTIL por facilitar la logística de los muestreos y las plántulas de uvilla para la investigación.

Contribuciones de los Autores

RL: redacción de la versión inicial del manuscrito, manejo del experimento y adquisición de datos, AQ: revisión y edición del manuscrito, JY: concepción, diseño del estudio, y revisión del manuscrito.

Conflicto de Intereses

Los autores declaran no tener conflictos de interés.

Referencias

- Agrios GN. 2005. Plant Pathology (5th ed.).
- Apolonio-Rodríguez I, Franco-Mora O, Salgado-Siclán ML, Aquino-Martínez JG. 2017. In vitro inhibition of *Botrytis cinerea* with extracts of wild grapevine (*Vitis* spp.) leaves. Revista mexicana de fitopatología. 35(2).
- Badotti F, De Oliveira FS, Garcia CF, Vaz ABM, Fonseca PLC, Nahum LA, Oliveira G, Góes-Neto A. 2017. Effectiveness of ITS and sub-regions as DNA barcode markers for the identification of Basidiomycota (Fungi). BMC Microbiol. 17(1). doi:10.1186/s12866-017-0958-x.
- Çakir Ö, Pekmez M, Çepni E, Candar B, Fidan K. 2014. Evaluation of biological activities of physalis peruviana ethanol extracts and expression of Bcl-2 genes in HeLa cells. Food Science and Technology. 34(2). doi:10.1590/fst.2014.0060.
- Catarina P. 2014. Uchuva (*Physalis peruviana*) fruta andina para el mundo. Alicante (España): Cebas- CSIC.
- Chen J, Zhu JZ, Li XG, He AG, Xia ST, Zhong J. 2021. *Botrytis cinerea* causing gray mold of Polygonatum sibiricum (Huang Jing) in China. Crop Protection. 140. doi:10.1016/j.cropro.2020.105424.

- Chen PH, Chen RY, Chou JY. 2018. Screening and evaluation of yeast antagonists for biological control of *Botrytis cinerea* on strawberry fruits. *Mycobiology*. 46(1). doi:10.1080/12298093.2018.1454013.
- Corrales-Bernal A, Vergara AI, Rojano B, Yahia E, Maldonado ME. 2015. Características nutricionales y antioxidantes de la uchuva colombiana (*Physalis peruviana* L.) en tres estadios de su maduración. *Arch Latinoam Nutr*. 65(4).
- Díaz J, Chaves-Acuña W, Yáñez J. 2019. Diversity of fungal communities inhabiting symptomatic leaves of Cape gooseberry (*Physalis peruviana*) in the Ecuadorian Andes. *Revista Ecuatoriana de Medicina y Ciencias Biológicas*. 40(2). Doi.org/10.26807/remcb.v40i2.762
- Erper I, Celik H, Turkkan M, Cebi Kilicoglu M. 2015. First report of *Botrytis cinerea* on golden berry. *Australas Plant Dis Notes*. 10(1). doi:10.1007/s13314-015-0175-0.
- Fajarningsih ND. 2016. Internal Transcribed Spacer (ITS) as DNA Barcoding to Identify Fungal Species: a Review. *Squalen Bulletin of Marine and Fisheries Postharvest and Biotechnology*. 11(2). doi:10.15578/squalen.v11i2.213.
- Farrera REP, Zambrano V a. E, Ortiz MF a. 2007. Identificación de hongos asociados a enfermedades del fruto de la fresa en el municipio Jáuregui del estado Táchira. *Rev Fac Agron*. 24.
- Fischer G, Almanza-Merchán PJ, Miranda D. 2014. Importancia y cultivo de la uchuva (*Physalis peruviana* L.). *Rev Bras Frutic*. 36(1). doi:10.1590/0100-2945-441/13.
- Gao P, Qin J, Li D, Zhou S. 2018. Inhibitory effect and possible mechanism of a *Pseudomonas* strain QBA5 against gray mold on tomato leaves and fruits caused by *Botrytis cinerea*. *PLoS One*. 13(1). doi:10.1371/journal.pone.0190932.
- Gümrükcü E, Polat, Sülü G, Kitapçı A, Baysal. 2016. First report of grey mold caused by *Botryotinia fuckeliana* on golden berry. *Plant Dis*. 100(3). doi:10.1094/PDIS-08-15-0908-PDN.
- Hernández CE, Carpio N. 2019. Introducción a los tipos de muestreo. *ALERTA Revista Científica del Instituto Nacional de Salud*. 2(1). doi:10.5377/alerta.v2i1.7535.
- Jakobija I, Bankina B, Klüga A. 2020. Morphological variability of *Botrytis cinerea* – causal agent of Japanese quince grey mould. *Agronomy Research*. 18(1). doi:10.15159/AR.20.045.
- Javed S, Javaid A, Anwar W, Majeed RA, Akhtar R, Naqvi SF. 2017. First report of botrytis bunch rot of grapes caused by *Botrytis cinerea* in Pakistan. *Plant Dis*. 101(6). doi:10.1094/PDIS-05-16-0762-PDN.
- Kozhar O, Peever TL. 2018. How does *Botrytis cinerea* infect red raspberry? *Phytopathology*. 108(11). doi:10.1094/PHYTO-01-18-0016-R.
- Kwon JH, Cheon MG, Choi O, Kim J. 2011. First report of *Botrytis cinerea* as a Postharvest pathogen of blueberry in Korea. *Mycobiology*. 39(1). doi:10.4489/MYCO.2011.39.1.052.
- Leiva-Mora M, Gabriel Panimboza-Yanzapanta J, Rivas-Figueroa F, Rivera-Casignia A, Carpio C. 2019. Agresividad diferencial entre aislados de *Botrytis cinerea* Pers. en *Fragaria vesca* L. cv. Albion. *Rev Prot Veg*. 34(1).
- Mamode Ally N, Neetoo H, Ranghoo-Sanmukhiya VM, Hardowar S, Vally V, Gungoosingh-Bunwaree A, Maudarbaccus F, Coutinho TA, Vojvodić M, Bulajić A. 2021. First report of *Botrytis cinerea* causing gray mold on greenhouse-grown tomato plants in mauritius. *Plant Dis*. 105(9). doi:10.1094/PDIS-01-21-0219-PDN.
- Marín-Chacón MA, Rivera-Coto G, Villalobos-Moya K, Orozco-Rodríguez R, Orozco-Cayasso S. 2017. Evaluación de hongos antagonistas de *Botrytis cinerea* pers., en plantaciones de mora, Costa Rica. *Agronomía Costarricense*. 41(1). doi:10.15517/rac.v41i1.29737.
- Medina L, Alihomar T, Herrera J, Perozo Y, Gonzales L. 1999. Estudio de hongos en bibliotecas de la Universidad de Carabobo-Valencia. *Salus*. 3(1): 1-17.
- Mirzaei S, Goltapeh EM, Shams-Bakhsh M. 2007. Taxonomical studies on the genus *Botrytis* in Iran. *Journal of Agricultural Technology*. 3(1).
- Morales-Restrepo N, Cardona-Castro N. 2018. Métodos de diagnóstico en micología. *Rev CES Med*. 32(1): 41-52.
- Moreno-Miranda C, Moreno R, Guamanquispe C, Molina J, Molina P. 2018. Understanding alternative agri-food networks in Ecuador: an exploration of the socio-productive structure of the cape gooseberry value chain (*Physalis peruviana*) in the Inter-Andean region. *Agroindustrial Science*.

8(2). doi:10.17268/agroind.sci.2018.02.07.

Notte AM, Plaza V, Marambio-Alvarado B, Olivares-Urbina L, Poblete-Morales M, Silva-Moreno E, Castillo L. 2021. Molecular identification and characterization of *Botrytis cinerea* associated to the endemic flora of semi-desert climate in Chile. *Curr Res Microb Sci.* 2. doi:10.1016/j.crmicr.2021.100049.

Novoa R, Bojacá M, Galvis J, Fischer G. 2006. La madurez del fruto y el secado del cáliz influyen en el comportamiento poscosecha de la uchuva, almacenada a 12 °C (*Physalis peruviana* L.). *Agron Colomb.* 24(1).

Núñez-Ríos T, Leyva-Mir SG, Rodríguez-Pérez JE, Mariscal-Amaro LA. 2013. Etiología y control de la necrosis de flores y pudrición de frutos de pepino en Morelos, México. *Rev Chapingo Ser Hortic.* 19(2). doi:10.5154/r.rchsh.2012.10.059.

Özer G, Bayraktar H. 2014. First report of *Botrytis cinerea* on Cornelian cherry. *Australas Plant Dis Notes.* 9(1). doi:10.1007/s13314-014-0126-1.

Pei YG, Tao QJ, Zheng XJ, Li Y, Sun XF, Li ZF, Qi XB, Xu J, Zhang M, Chen HB, et al. 2019. Phenotypic and genetic characterization of *Botrytis cinerea* population from kiwifruit in Sichuan Province, China. *Plant Dis.* 103(4). doi:10.1094/PDIS-04-18-0707-RE.

Plaza V, Bustamante C, Silva-Moreno E, Castillo L. 2018. First report of *Botrytis cinerea* causing gray mold disease on the endemic plant *Echinopsis coquimbana* in the Coquimbo Region, Chile. *Plant Dis.* 102(7). doi:10.1094/PDIS-03-17-0445-PDN.

Promega. 2019. Techinal Manual Wizard® Genomic DNA Purification Kit Wizard® Genomic DNA Purification Kit. Technical Bulletin.

PROEcuador. 2020. Oferta de uvilla ecuatoriana en mercados potenciales. Ministerio de producción, comercio exterior, inversiones y pesca.

Richards JK, Xiao CL, Jurick WM. 2021. *Botrytis* spp.: A contemporary perspective and synthesis of recent scientific developments of a widespread genus that threatens global food security. *Phytopathology.* 111(3). doi:10.1094/PHYTO-10-20-0475-IA.

Roca-Couso R, Flores-Félix JD, Rivas R. 2021. Mechanisms of action of microbial biocontrol agents against *Botrytis cinerea*. *Journal of Fungi.* 7(12). doi:10.3390/jof7121045.

Schoch CL, Seifert KA, Huhndorf S, Robert V, Spouge JL, Levesque CA, Chen W, Bolchacova E, Voigt K, Crous PW, et al. 2012. Nuclear ribosomal internal transcribed spacer (ITS) region as a universal DNA barcode marker for Fungi. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 109(16). doi:10.1073/pnas.1117018109.

Stewart TM, Long PG. 1987. Sporulation of *Botrytis cinerea* in the dark. *New Zealand Journal of Experimental Agriculture.* 15(3). doi:10.1080/03015521.1987.10425587.

Swart WJ, Tesfaendrias MT, Terblanche J. 2001. First Report of *Botrytis cinerea* on Kenaf in South Africa. *Plant Dis.* 85(9). doi:10.1094/pdis.2001.85.9.1032b.

Terrones-Salgado J, Nieto-Angel D, Nava-Díaz C, Téliz-Ortiz D, García-Velasco R, Vallejo-Pérez MR, Sánchez-García P. 2019. *Botrytis cinerea* causante del moho gris en frutos de zarzamora en México. *Revista Mexicana de Fitopatología, Mexican Journal of Phytopathology.* 37(3). doi:10.18781/r.mex.fit.1906-1.

Villasanti C, Godoy N. 2012. Manual de Buenas Prácticas Agrícolas para el productor hortofrutícola. 2nd. Santiago de Chile (Chile): FAO.

Wang H-C, Li W-H, Wang M-S, Chen Q-Y, Feng Y-G, Shi J-X. 2011. First Report of *Botrytis cinerea* Causing Gray Mold of Tobacco in Guizhou Province of China. *Plant Dis.* 95(5). doi:10.1094/pdis-01-11-0064.

White TJ, Bruns T, Lee S, Taylor J. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. *PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications. Genetics and Evolution.* 2(3).

Yu L, Zhao JR, Xu SG, Su Y, Gao D, Srzednicki G. 2014. First report of gray mold on *Amorphophallus muelleri* caused by *Botrytis cinerea* in China. *Plant Dis.* 98(5). doi:10.1094/PDIS-08-13-0855-PDN.