

Identificación molecular y caracterización morfológica de hongos fitopatógenos en el cultivo de *Annona muricata* variedad guanábana gigante ecuatoriana

Molecular identification and morphological characterization of phytopathogenic fungi in the cultivation of Annona muricata variety ecuadorian giant soursop

Edita Valle¹, Silvia Llerena², Evelyn Oña³

¹ Universidad Regional Amazónica Ikiam. <https://orcid.org/0009-0009-0343-019X>

² Universidad Regional Amazónica Ikiam. <https://orcid.org/0000-0002-0491-530X>

³ Universidad Regional Amazónica Ikiam. <https://orcid.org/0009-0002-6003-9866>

Autor de correspondencia: edita.valle@est.ikiam.edu.ec

DOI: <https://doi.org/10.63804/CIBEN.25.bbfs.e13>

Resumen

Annona muricata L., conocida comúnmente como guanábana, está adaptada a condiciones subtropicales en Ecuador, permitiendo variedades productivas y de calidad. Sin embargo, sufre enfermedades fúngicas que se intensifican en épocas lluviosas. Esta investigación caracterizó morfológica y molecularmente los hongos fitopatógenos presentes en la guanábana. Se recolectaron hojas, flores, tallos, corteza y frutos infectados en la Finca Agroecológica Yolita, Napo, Ecuador. Los hongos se aislaron en agar rosa bengala (ARB) hasta obtener cultivos axénicos y se tiñeron con azul de metileno al 1%. La identificación molecular se realizó mediante PCR y secuenciación de los transcritos ITS1, ITS2 e ITS4. Los hongos fitopatógenos identificados fueron *Fusarium solani-melongenae* (P.I. 100%), *F. pseudensiforme* (P.I. 100%), *F. concolor* (P.I. 98,85%), *F. equiseti* (P.I. 100%), *Colletotrichum* sp. (P.I. 98,64%) y *Lasiodiplodia theobromae* (P.I. 100%). Estos resultados permitirán diagnósticos precisos y tempranos, beneficiando a agricultores locales y promoviendo agricultura sostenible y seguridad alimentaria en la región.

Palabras clave: caracterización morfo-cultural; enfermedades; fungi; secuenciación.

Abstract

Annona muricata L., commonly known as soursop, is adapted to subtropical conditions in

Ecuador, allowing for productive and high-quality varieties. However, it is affected by fungal diseases that intensify during the rainy season. This research characterized the phytopathogenic fungi associated with soursop both morphologically and molecularly. Infected leaves, flowers, stems, bark, and fruits were collected from the Yolita Agroecological Farm in Napo, Ecuador. Fungi were isolated on rose bengal agar (RBA) until axenic cultures were obtained and stained with 1% methylene blue. Molecular identification was carried out through PCR and sequencing of ITS1, ITS2, and ITS4 transcripts. The identified phytopathogenic fungi were *Fusarium solani-melongenae* (I.S. 100%), *F. pseudensiforme* (I.S. 100%), *F. concolor* (I.S. 98.85%), *F. equiseti* (I.S. 100%), *Colletotrichum* sp. (I.S. 98.64%), and *Lasiodiplodia theobromae* (I.S. 100%). These results will enable accurate and early diagnoses, benefiting local farmers and promoting sustainable agriculture and food security in the region.

Keywords: Morpho-cultural characterization; Diseases; Fungi; Sequencing.

Introducción

Annona muricata L., conocida comúnmente como guanábana, es originaria de regiones tropicales de América y cultivada en zonas tropicales de Ecuador; posee creciente relevancia económica y agrícola. Sin embargo, enfrenta limitaciones por plagas y enfermedades (Hernández et al., 2022). Según (Arangurú et al., 2024), una de las afectaciones por hongos es la muerte descendente en guanábana, causada principalmente por *Lasiodiplodia theobromae*. Este fitopatógeno causa marchitamiento, necrosis y muerte de ramas. Además, la antracnosis causada por *Colletotrichum gloeosporioides* afecta frutos y ramas, provocando lesiones y pérdidas económicas en cultivos de guanábana. Ambos representan amenazas fúngicas relevantes. En Ecuador, la producción de guanábana está en etapa inicial, con potencial de crecimiento debido a sus propiedades nutricionales, medicinales y a la demanda internacional (Rojas, 2022). Las técnicas moleculares como PCR permiten identificar con precisión especies de hongos mediante la amplificación de regiones altamente conservadas y variables del ADN ribosomal, constituyéndose en un método confiable y ampliamente usado para taxonomía y diferenciación de especies (Suárez y Peñaranda, 2022). Por lo que, el objetivo de esta investigación fue caracterizar morfológica y molecularmente fitopatógenos asociados al cultivo de guanábana variedad guanábana Gigante Ecuatoriana. La identificación molecular y caracterización morfológica de hongos fitopatógenos en *Annona muricata* es fundamental para reconocer oportunamente patógenos emergentes debido a que en Ecuador hay ausencia de reporte de su incidencia y este estudio permitirá diseñar estrategias efectivas de control. Este enfoque mejora la sostenibilidad del cultivo y la producción de calidad del fruto (Cambero et al., 2024).

Metodología

Las muestras se obtuvieron en la Finca Agroecológica Yolita, Napo (Ecuador), con el permiso MAATE-CMARG-2024-0057 se recolectaron hojas, frutos, tallos y flores de guanábana variedad Gigante Ecuatoriana con síntomas fúngicos. Luego, se cortaron fragmentos de 1 cm², se desinfectaron con alcohol al 70% durante 30 segundos y luego con hipoclorito de sodio al 1% durante un minuto, con lavados posteriores en agua destilada estéril y secado en papel estéril. Los fragmentos se sembraron en Agar Rosa Bengala (ARB) para aislar patógenos, incubando a 28 °C durante 7–14 días en oscuridad (Mata & Salmones, 2021). Las colonias emergentes se subcultivaron hasta obtener cultivos axénicos y se evaluaron características macroscópicas y microscópicas. La caracterización macroscópica a evaluar fue su morfología en caja, el color, tamaño y textura, y para la caracterización microscópica, se extrajo una impronta del micelio, se colocó en el portaobjetos, se tiñó con azul de metileno y se observó al microscopio óptico con aumento de 40X (Cervantes et al., 2020). Para identificación molecular, se extrajo ADN mediante el método de ebullición y se amplificó la región ITS por la técnica de reacción en cadena de polimerasa (PCR) utilizada comúnmente para identificación fúngica (Licona et al., 2019; Mbareche et al., 2020). Los amplicones se observaron en geles al 1,5% de agarosa por electroforesis. Los productos se secuenciaron (Macrogen), se compararon en GenBank y NCBI, considerando 90 al 100 % de identidad y cobertura para determinar la especie (Suárez & Peñaranda, 2022).

Resultados y discusión

De los cultivos axénicos identificados molecularmente se obtuvo a *Lasiodiplodia theobromae* que presentó micelio abundante, hifas septadas que inicialmente eran blancas y se tornaron negras con el tiempo, además de la presencia de picnidios con conidios, los cuales son ovoides a elipsoidales, hialinos en cultivos jóvenes y se vuelven oscuros a medida que envejecen. Esto coincide con la descripción del hongo por (Aranguré et al., 2024). En cuanto a *Fusarium sp.*, presentó micelio algodonoso con tonos blanquecinos. El micelio fue septado, delgado, conidióforos, con microconidios y macroconidios ligeramente curvados, en forma de canoa (Cambero et al., 2024). Por otro lado, *Colletotrichum sp.* presentó micelio blanquecino semiesponjoso con conidios ovalados, hialinos y no septados, coincidiendo con las características descritas para *Colletotrichum sp.* (Chavez et al., 2024).

Además, se identificaron hongos del género *Fusarium*, específicamente *Fusarium solani-melonense* (Porcentaje de Identidad 100%) con la accesión PP422928.1, *Fusarium pseudensiforme* (P.I. 100%) con la accesión JF433037.1, *Fusarium concolor* (P.I. 98,85%) con la accesión MN19299.1 y *Fusarium equiseti* (P.I. 100%) con la accesión OR144011.1. Así mismo, se identificó el hongo

filamentoso de textura espesa blanquecina correspondiente a *Colletotrichum* sp. (P.I. 98,64%) con la accesión ON155128.1 y el hongo filamentoso con textura elevada de micelio grisáceo *Lasiodiplodia theobromae* (P.I.100%) con la accesión MW045414.1.

Conclusiones

La identificación morfológica y molecular de los hongos encontrados en la guanábana en Napo, Ecuador, reveló diversas especies, destacando *Lasiodiplodia theobromae*, *Fusarium solani-melongenae*, *F. pseudensiforme*, *F. concolor*, *F. equiseti* y *Colletotrichum* sp. como agentes patógenos relevantes. La presencia de estos hongos, relacionados con síntomas fúngicos en diferentes tejidos, pone en evidencia la amenaza que representan para la producción local. La caracterización por técnicas moleculares permitió confirmar su identidad con alta confianza, facilitando diagnósticos precisos y tempranos. Estos hallazgos son fundamentales para desarrollar estrategias de manejo y control eficientes, promoviendo la sostenibilidad, mejorando la salud de los cultivos y protegiendo la calidad del fruto en la región.

Referencias bibliográficas

Aranguré, A. B., Esquivel, G. L., Velasco, C. R., Guzmán, G. G. L., Campos, O. J. C., & Crespo, E. C. (2024). *Lasiodiplodia theobromae* agente causal de muerte descendente en guanábana (*Annona muricata* L.) en Nayarit, México. *Revista Bio Ciencias*, 11. <https://doi.org/10.15741/revbio.11.e1594>

Camero, C., Rios, C., Luna, G., López, G., Estrada, M. O., & Camero, O. (2024). Patógenos causantes de la pudrición de raíz en guanábana (*Annona muricata* L.), en Nayarit, México. *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios*, 11(2), e3672. <https://doi.org/10.19136/era.a11n2.3672>

Cervantes, A., Lalangui, Y., Sánchez, A., Colmenares de Ortega, C. B., & Jaramillo, E. (2020). Evaluación del desarrollo de micelios de *Mycosphaerella Fijiensis* Morelet, recolectados en el centro y lindero en plantación de *Musa* sp. AAA. *Revista Metropolitana de Ciencias Aplicadas*, 3(3), 270-276.

Chávez, F., Núñez, J., Vargas, A., Amaro, L., & Colín, C. (2024). Efecto inhibitorio in vitro de aceites esenciales contra *Colletotrichum gloeosporioides*. *Acta Agrícola y Pecuaria*, 10(1), 5. <https://doi.org/10.30973/aap/2024.10.0101008>

Hernández, L., Velázquez, J., González, H., Illescas, C., & Manzanilla, M. (2022). Insectos y ácaros fitófagos asociados con la guanábana *Annona muricata* L.: Una revisión. *Southwestern Entomologist*, 47(3), 747-762. <https://doi.org/10.3958/059.047.0325>

Licona, K., Acosta, G., Ramírez, H., Huanca, W. & Guevara, L. (2019). Rapid and accurate PCR-based and boiling DNA isolation methodology for specific detection of *Sclerotium cepivorum* in garlic (*Allium sativum*) cloves. *Interciencia*, 44(2), 71-74. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=33958304004>

Mata, G. & D. Salmenes (eds.), (2021). *Técnicas de aislamiento, cultivo y conservación de cepas de hongos en el laboratorio*. Instituto de Ecología, A.C., Xalapa, México.

Mbareche H., Veillette M., Bilodeau G., Duchaine C. (2020). Comparación del rendimiento de ITS1 e ITS2 como códigos de barras en la secuenciación de bioaerosoles basada en amplicones. *PeerJ* 8 : e8523. <https://doi.org/10.7717/peerj.8523>

Rojas, A. (2022). Estudio de factibilidad para la creación de una empresa dedicada a la elaboración y exportación de néctar de guanábana en el cantón Machala, provincia del Oro, hacia el mercado chileno (Tesis de pregrado). Universidad Técnica de Machala. <http://repositorio.utmachala.edu.ec/bitstream/48000/6835/1/TTUACE-2016-CI-CD00019.pdf>

Suárez, L., & Peñaranda, F. (2022). Identificación molecular de hongos filamentosos y su potencial biotecnológico. *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 20(1), 194-206. http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S1692-35612022000100194&script=sci_arttext