

**PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR**

**FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES**

**ESCUELA DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**

**CARRERA DE MICROBIOLOGÍA**

Identificación de *damping off* en semilleros de uvilla en el Ecuador

**Disertación previa a la obtención del título de Microbióloga**

AMANDA ABIGAIL ESTRADA BETANCOURT

Quito, 2023.

## **CERTIFICACIÓN**

Certifico que, la disertación de Microbiología de la candidata Amanda Abigail Estrada Betancourt, ha sido concluida de conformidad con las normas establecidas; por lo tanto, puede ser presentada para la calificación correspondiente.



Martín Sebastián Marcial Coba

Director de la Disertación

Quito, 6 de diciembre 2023

## **DEDICATORIA**

A mi madre y mi abuela que velaron siempre por mi bienestar.  
A mi mejor amiga Lesly Jazmín te llevo siempre en mi corazón.

Amanda Estrada

## **AGRADECIMIENTOS**

Agradezco a mi madre Tatiana Betancourt por creer en mí antes de que yo lo hiciera y apoyarme. A mi abuelito Luis B. que fue la única mano extendida cuando necesité ayuda. A mis abuelos paternos y mi padre por acogerme en su casa, tratarme con cariño. Y por sobre todo a mi abuelita Rosa a la que amo profundamente y guardo parte de su alma siempre conmigo.

A Jeniffer Yáñez por su perspicacia que construyó este proyecto y su orientación para formarme como investigadora. A mi director de tesis Martín Marcial por su guía y correcciones oportunas. Y todos mis docentes que con su dedicación me formaron como profesional en el mundo de la microbiología.

A la familia que encontré en la PUCE Alexis, Melanie y Emilia espero que podamos seguir siendo amigos a lo largo de los años. Muchas gracias por apoyarme cuando lo necesito.

A la Pontificia Universidad Católica del Ecuador por su apoyo económico al que me hice acreedora al acceder al Fondo Públícalo.

El siguiente trabajo de investigación se presenta en el formato de La Granja: Revista de Ciencias de la Vida. La normativa para autores se encuentra en el siguiente enlace:  
<https://lagranja.ups.edu.ec/pdf/granja/normas.pdf>

**Sección (Marcar)**Artículo científico Revisión Bibliográfica Punto de vista Special Issue" Sustentabilidad Organizacional, Desarrollo y Gestión Ambiental" **Identificación de *damping off* en semilleros de uvilla en el Ecuador*****Damping off identification in goldenberry seedbeds in Ecuador*****RESUMEN**

*Physalis peruviana* L., es un arbusto endémico presente en distintas locaciones del continente americano. El incremento en su demanda de consumo en varios lugares del mundo se debe al alto valor nutritivo en vitaminas y micronutrientes. En conexión con el continuo incremento del cultivo de esta fruta, surgen varios retos como la identificación o el control de patógenos. Los semilleros, en este caso, responden a satisfacer esa deprecación por lo que su uso es indispensable. Estos últimos son áreas controladas y acondicionadas para la germinación de semillas hasta que las plantas alcanzan la altura necesaria para la producción en campo. Sin embargo, estas no están exentas ante diversas enfermedades y plagas que pueden provocar una disminución de la producción o muerte. Por ejemplo, el *damping off* es una enfermedad, suscitada por múltiples patógenos como *Pythium* sp., *Phytophthora* sp., *Fusarium* sp. y *Rhizoctonia* sp. Generalmente, los síntomas canónicos sobre las plántulas de uchuva son manchas amarillas en las hojas, marchitez, tallos delgados, pérdida de hojas, reducción de la turgencia, flacidez y crecimiento desigual. A pesar de la importancia de esta enfermedad, en Ecuador no existen estudios sobre el *damping off* en uvilla. El objetivo de este estudio fue identificar patógenos potenciales asociados con el *damping off* de la uchuva en semillero a través de la caracterización morfológica y molecular. Se identificó a *Rhizoctonia solani* como el patógeno causante de la sintomatología congruente con el mal de semillero y comprobado mediante postulados de Koch.

**ABSTRACT**

*Physalis peruviana* L., is an endemic shrub present in different locations of the American continent. The increase in its consumption in various parts of the world is due to its high nutritional value since it contains vitamins and micronutrients. The continuous increase in the cultivation of

33 this fruit implies several challenges, such as the identification and control of pathogens. The  
34 seedbeds are an alternative to tackle those problems, which is why its use is essential for  
35 increasing productivity. Seedbeds are controlled and conditioned areas for seed germination,  
36 where they grow until the plants reach a given height for soil transfer in the field. However, they  
37 are not exempt from diseases and pests that can cause a decrease in production or death. For  
38 example, the damping off is a disease caused by multiple pathogens like *Pythium* sp.,  
39 *Phytophthora* sp., *Fusarium* sp. and *Rhizoctonia* sp. Canonical symptoms on gooseberry plantlets  
40 are spots yellow leaves, wilting, thin stems, lack of leaves, reduced turgor, flaccidity and uneven  
41 growth. Despite the importance of this disease in Ecuador, there are no studies on damping off  
42 in gooseberry. The objective of this study was to identify potential pathogens associated with the  
43 damping off in gooseberry through morphological and molecular characterization. *Rhizoctonia*  
44 *solani* was identified as the pathogen causing the symptoms consistent with seedbed disease  
45 and was verified using Koch's postulates.

#### 46 **Palabras clave**

47 *Physalis peruviana*, plántulas, *Rhizoctonia solani*, marchitez

#### 48 **Keywords**

49 *Physalis peruviana*, seedling, *Rhizoctonia solani*, wilting

### 50 **1. Introducción**

51 *Physalis peruviana* L. es un arbusto procedente de zonas altas en los andes americanos (Legge,  
52 1974). Crece en temperaturas entre 13-18°C, humedad relativa 70-80%, altitud 1500-3000  
53 msnm, suelos con pH 5,5 - 6,8, arcillosos-arenosos con gran contenido de materia orgánica y  
54 precipitación anual de 1000-2000 mm (Ruiz Gaitan, Castellanos González y Jair Villamizar,  
55 2018). Esta planta herbácea perteneciente a la familia de las solanáceas y tiene un fruto, llamado  
56 uvilla o uchuva, reconocido en el área culinaria gracias a su característico sabor agridulce que  
57 es agradable al paladar (Fischer, Almanza-Merchán y Miranda, 2014). El consumo de uvilla o  
58 uchuva se asocia con varios efectos favorables para la salud humana por su contenido de  
59 antioxidantes (Ramadan, 2011). Asimismo, tiene un alto valor energético, vitaminas C, B, K y  
60 micronutrientes como zinc, hierro y cobre (Ramadan, 2011).

61 En conexión con los antecedentes, arriba mencionados, en Ecuador la producción de uvilla  
62 posee una creciente importancia económica. Por ejemplo, en el 2009, la exportación de este fruto

63 generó un total de ingresos de 78 000 dólares americanos, mientras que ocho años después la  
64 rentabilidad por esta misma actividad alcanzó los 782 000 dólares (Instituto de Promoción de  
65 Exportaciones e Inversiones, 2014, 2017). En función de este sostenido incremento productivo,  
66 surgen varios retos como la identificación de patógenos y el control de los mismos (Álvarez-  
67 Herrera *et al.*, 2021). Por ejemplo, diversas enfermedades causadas por microorganismos  
68 disminuyen la producción o conducen a la muerte de las plantas (Chaves Acuña, Díaz y Yáñez,  
69 2019). Una de las patologías de mayor importancia, por su prevalencia, es el *damping off*,  
70 también conocido como enfermedad de marchitamiento o mal de semillero (Widyaningsih *et al.*,  
71 2020). Tal patología causa síntomas en las fases de pre y posemergencia (Cram, 2023) y puede  
72 ser causada por factores abióticos fuera de su rango óptimo (como humedad del suelo,  
73 temperatura y pH) o por factores bióticos que incluyen a diversos patógenos (Miranda Lasprilla  
74 *et al.*, 2016).

75 La relevancia del *damping off* radica en que el cultivo de uchuva inicia en un espacio dispuesto  
76 para la germinación de semillas, conocido como semillero o vivero, hasta que las plantas  
77 alcancen la altura necesaria y puedan ser transportadas al campo para destinarse a la producción  
78 (Dainello, Heineman y Mulkey, 1982). Durante la fase en semillero del cultivo de la uchuva, el  
79 mal de semillero causa podredumbre en las raíces y manchas amarillas en las hojas (Lamichhane  
80 *et al.*, 2017), lo que puede llevar a la muerte de hasta el 50% de plántulas (Medrano Echalar y  
81 Ortuño, 2007).

82 Los cuatro principales patógenos relacionados al *damping off* son: *Pythium* sp., *Phytophthora*  
83 sp., *Fusarium* sp. y *Rhizoctonia* sp. (Abandonon, Aveling y Tamo, 2004). Entre estos, *Pythium*  
84 sp. y *Phytophthora* sp. son oomicetes que no solamente infectan a la familia Solanaceae, sino a  
85 diferentes plantas como la lechuga o el cacao (Andrea *et al.*, 2011; Van der Heyden *et al.*, 2019).  
86 Para el control de estos oomicetes, se emplean varios fungicidas químicos mediante su  
87 aplicación en semillas para evitar la infección (Grijalba y Ridaó, 2017). *Fusarium* spp. es un hongo  
88 ascomicete que produce una de las enfermedades más limitantes y que genera un mayor impacto  
89 económico, el marchitamiento vascular de la uvilla, la cual disminuye drásticamente la  
90 productividad del cultivo (Rios-Hernández *et al.*, 2021). Por otra parte, *Rhizoctonia* spp. es un  
91 basidiomiceto que causa enfermedades en diversos cultivos y tiene importancia mundial a causa

92 de las grandes pérdidas económicas que genera (Montero-Tavera *et al.*, 2013; Arcos y Zúñiga,  
93 2015).

94 A pesar de la importancia del *damping off*, todavía no existen estudios enfocados en la  
95 identificación de los patógenos causantes en semilleros de uvilla en Ecuador. La presente  
96 investigación procuró identificar diferentes géneros como potenciales agentes etiológicos del  
97 *damping off* en semilleros de uvilla en Tabacundo, Ecuador. Esto con el fin de fundar las bases  
98 para posibles iniciativas sobre el control de esta patología, evitando las pérdidas económicas y  
99 mejorar la producción de uvilla a nivel nacional.

100

## 101 **2. Materiales y Métodos**

### 102 **2.1 Muestreo**

103 En la localidad de Tabacundo-Pichincha, Ecuador, se recolectaron 20 muestras de plántulas de  
104 uvilla con base en la presencia de síntomas característicos de enfermedad *damping off* en la fase  
105 de post emergencia. Estos consisten en el desarrollo de manchas acuosas ligeramente  
106 ennegrecidas en las hojas, además de signos de marchitez, entre otros (Félix-Gastélum *et al.*,  
107 2007). (Figura 1).



108

109 **Figura 1.** Semillero de uvilla enfermo con sintomatología del *damping off*: manchas cloróticas  
110 en las hojas, marchitez, tallos delgados, falta de hojas, reducción de la turgencia, flacidez y  
111 crecimiento desigual.  
112

### 113 **2.2 Aislamiento y purificación**

114 Previamente, se lavaron las plántulas enteras con agua destilada para retirar el suelo remanente  
115 y otras impurezas. Se tomaron secciones de raíces, tallos (5 mm) y hojas (5 por 5 mm) contiguos  
116 a los tejidos necróticos. Estos se sumergieron en hipoclorito de sodio al 2% durante un minuto,  
117 para desinfectarlos y se los enjuagó dos veces con agua destilada estéril. Los fragmentos se  
118 colocaron por separado en placas Petri con agar papa dextrosa (PDA), harina de maíz (CM),

119 jugo de ocho vegetales (V8), agar harina de centeno y agar centeno. Estas se incubaron a 25°C  
120 durante una semana aproximadamente (Ayala-Armenta *et al.*, 2020). Los hongos y oomicetes se  
121 purificaron mediante un aislamiento subsecuente en PDA.

### 122 **2.3 Identificación morfológica**

123 A partir de cultivos puros de aproximadamente 15 días, los aislamientos se identificaron mediante  
124 claves dicotómicas (Singleton *et al.*, 1992; Wantanabe, 2002), en base a las características  
125 microscópicas de las colonias con montajes de azul de lactofenol y agua destilada (Díaz Nájera  
126 *et al.*, 2014).

### 127 **2.4 Identificación molecular**

128 El ADN genómico de los aislamientos se extrajo mediante el uso del kit Wizard® (Promega,  
129 Wisconsin, EE. UU.) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. La región de espaciadores  
130 internos transcritos (ITS) fue amplificada por reacción en cadena de la polimerasa (PCR) usando  
131 los cebadores ITS1 (5' TCCGTAGGTGAACCTGCGG 3') e ITS 4 (5'  
132 TCCTCCGCTTATTGATATGC 3'). La reacción se realizó en un termociclador Labnet MultiGene  
133 OptiMax, en un volumen final de 25 µl. El contenido de la *master mix* se detalla en la Tabla 1.  
134 Los parámetros de la reacción fueron los siguientes: desnaturalización inicial de 95°C por 1  
135 minuto, 30 ciclos de 95°C durante 1 minuto, 55°C por 30 segundos, 72°C durante 1 minuto y una  
136 extensión final de 72°C por 5 min. Los productos de PCR se resolvieron mediante electroforesis  
137 en agarosa al 1.5% en TAE 2X (fabricante) durante 1 hora a 90 voltios. Inmediatamente, el gel  
138 se reveló en un transiluminador a una longitud de onda de 470 nm (White *et al.*, 1990). Los  
139 amplicones se secuenciaron por el método Sanger en la empresa Macrogen Inc. Corea del Sur.  
140 Las secuencias obtenidas se editaron en el software MEGA 11 (Koichir, Glen y Sudhir, 2021) y  
141 se compararon mediante la herramienta BLAST con la base de datos *GenBank-Nacional Center*  
142 *for Biotechnology Informations* (NCBI), con el fin de identificar la especie (National Library of  
143 Medicine and National Center for Biotechnology Information).

144

145 **Tabla 1.** Contenido del *Master Mix* para la amplificación de la región ITS en hongos.

146  
147

N°	Cantidad (µl)	Reactivo
1	8	Agua libre de nucleasas
2	12.5	Go Taq R Promega
3	1.25	Primer Forward ITS 1

4	1.25	Primer Reverse ITS 4
5	2	ADN

148

## 149 **2.5 Postulados de Koch**

150 Para los tratamientos, se sembraron 10 semillas en un papel absorbente previamente  
151 desinfectado con luz UV y se las almacenó en un ambiente controlado (25°C) bajo oscuridad  
152 durante una semana. Las plántulas de uvilla se conservaron en condiciones ambientales  
153 (fotoperiodo 12/12, temperatura 17°C aprox.) cuando se evidenciaron los primeros brotes. Por  
154 otra parte, el hongo a inocular se propagó durante 15 días en PDA, hasta obtener un cultivo puro  
155 con producción de esclerocios (Villa *et al.*, 2013). Luego de 1 mes y 15 días de crecimiento de  
156 las plántulas (fase de posemergencia), se inocularon los esclerocios del hongo en el ápice de 4  
157 plántulas sanas. Adicionalmente, se incluyeron 4 plántulas no inoculadas como controles del  
158 ensayo. Las plántulas inoculadas se observaron diariamente durante 1 mes, con el fin de registrar  
159 la aparición de sintomatología característica del *damping off*. Posteriormente, las plantas  
160 sintomáticas se procesaron para el aislamiento y confirmación del patógeno mediante la  
161 metodología descrita anteriormente (Ayala-Armenta *et al.*, 2020).

162

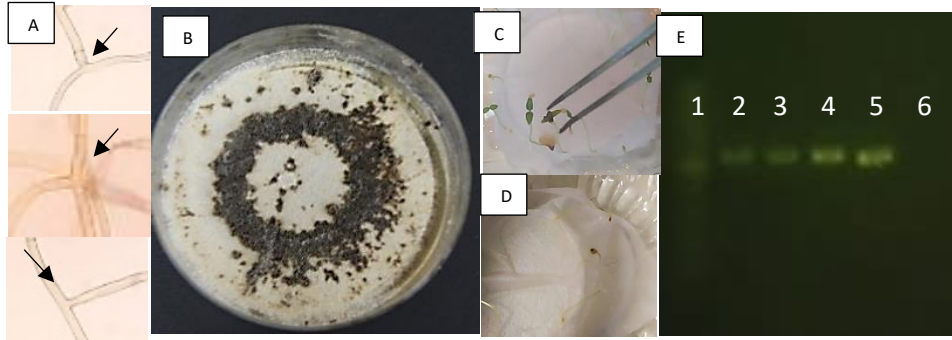
## 163 **3. Resultados y Discusión**

164 De todas las muestras sintomáticas analizadas 5 fueron positivas, se aisló un hongo que entre  
165 sus propiedades macroscópicas en PDA se incluye la exhibición de esclerocios cafés que forman  
166 un halo redondo e hifas color crema. Por otra parte, microscópicamente muestra hifas septadas  
167 de color marrón con un ángulo recto, constricción y septo cercanos a la ramificación (Figura 2.  
168 A-B). Las características, tanto microscópicas, como macroscópicas del aislamiento fueron  
169 compatibles con las del género *Rhizoctonia* (Abdel-Sattar, El-Marzouky e Ibrahim, 2017; Desvani  
170 *et al.* 2018; Betancourth-García *et al.* en el 2021). Además, el análisis molecular confirmó la  
171 identidad del microorganismo como *Rhizoctonia solani*, con un porcentaje de identidad  
172 nucleotídica del 99.04% con el número de acceso AB547382.1 depositado en GenBank (Misawa  
173 y Kuninaga, 2010).

174 Debido a que la interacción entre la planta y el patógeno *R. solani*, comienza cuando el hongo  
175 invade el ápice de crecimiento e impide que emerja la plántula (Agrios, 1998), el ensayo de  
176 verificación de los postulados de Koch se realizó inoculando el ápice de las plántulas de uvilla  
177 (Figura 1. C). Las plántulas inoculadas con *R. solani* perdieron turgencia en el tallo, fueron

178 incapaces de sostenerse y posteriormente murieron (Figura 1. D). A partir de las mismas, se aisló  
179 un hongo con características morfológicas idénticas a las de aquel anteriormente aislado.  
180 Asimismo, se comprobó molecularmente su identidad (Figura 1. A-B). En contraste, las plántulas  
181 no inoculadas no mostraron sintomatología, ni signos de infección.

182



183

184 **Figura 2. A)** Micrografías de *R. solani* a 40x. Micelio sin formación aparente de estructuras  
185 (*micelia sterilia*), las flechas señalan la pequeña constricción y septo cercano a la ramificación **B)**  
186 Fotografía macroscópica del cultivo de *R. solani* 15 días posinoculación en PDA. **C)** Inoculación  
187 del aislamiento de *R. solani* en el ápice de una plántula sana. **D)** Plántula inoculada 15 días  
188 posinoculación mostrando sintomatología. **E)** Electroforesis del segmento ITS. Los carriles se  
189 presentan en el siguiente orden: 1. *R. solani* aislada del semillero; 2-3. *R. solani* reaisladas de  
190 las plántulas inoculadas artificialmente; 4. control positivo y 5. control negativo.

191

192 El análisis de patogenicidad es congruente con otros estudios donde se ilustra a *R. solani* como  
193 patógeno del mal de semillero. Por ejemplo, se registró el primer reporte del amortiguamiento en  
194 *Atractylodes ovata* provocado por *R. solani* AG-5 en zonas campesinas de Corea del Sur  
195 (Hassan y Chang, 2021). También, los cultivos de col blanca en centro del Mar Negro, *Brassica*  
196 *oleracea* var. *capitata* f. *alba* L., son afectados por *R. solani* AG-4 y HG-1, (Saygi *et al.*, 2020).  
197 Asimismo, en Washington, la canola, *Brassica napus* L, cultivada fue afectada en la fase  
198 posemergencia por *R. solani* AG 2-1 (Paulitz, Okubara y Schillinger, 2007).

199 Aunque *Pythium* spp., *Phytophthora* spp., *Rhizoctonia* spp., y *Fusarium* spp se han reportado  
200 como principales agentes causales del damping off. También, se tiene registro de que *Alternaria*  
201 spp. y *Phoma* spp. fueron reconocidos como causantes de esta enfermedad; sin embargo, no se  
202 ha registrado ser necesaria una asociación entre estos fitopatógenos (Adandonon, Aveling y  
203 Tamo, 2004; Ren, Zhang y Dai, 2012). Al existir múltiples causantes para la enfermedad del  
204 *damping off* y estar asociada a varios microorganismos, se puede justificar la ausencia de otros  
205 posibles agentes causales del *damping off* en el semillero de uvilla analizado (Lamichhane *et al.*,

206 2017). Por lo tanto, en el presente estudio se identificó solamente y por primera vez en Ecuador  
207 a *R. solani* como principal patógeno de la enfermedad en semillero en uvillas.

208 *R. solani* es un patógeno, que pese a no poseer estructuras de dispersión (*micelia sterilia*),  
209 sobrevive a las condiciones adversas del medio gracias a los esclerocios, los cuales germinan  
210 para formar micelio (Senapati *et al.*, 2022; González Hernández, 2002). Tales estructuras de  
211 resistencia le permiten a *Rhizoctonia* spp. adaptarse a la desecación, adhiriéndose al ápice de  
212 crecimiento al eclosionar las semillas para infectarlas en la fase de preemergencia. También, el  
213 empleo de agua de riego incorrectamente tratada, sustrato/suelo contaminado y utilización de  
214 herramientas no desinfectadas contribuyen a la infección del semillero con *Rhizoctonia* (Acuña,  
215 2019). Como anteriormente se mencionó, gracias a sus estructuras de resistencia el hongo  
216 puede sobrevivir sin una planta hospedera durante mucho tiempo en el suelo (Fatmawati *et al.*,  
217 2020).

218 *R. solani* se caracteriza también por su amplia gama de hospederos y su ubicuidad en las zonas  
219 agrícolas alrededor del mundo (Yu *et al.*, 2021). En Ecuador, afecta a la economía del país  
220 impactando productos de la canasta básica como papa, fréjol y arroz (Pérez y Delgado, 2017;  
221 Rivadeneira *et al.*, 2020; Portalanza *et al.*, 2022). Por ejemplo, en la producción de papa,  
222 *Rhizoctonia* spp. es uno de los microorganismos que reduce altamente el rendimiento de este  
223 tubérculo, tanto en Ecuador, como en Colombia (Rivadeneira *et al.*, 2020; Chavarro-Mesa *et al.*,  
224 2021) En otros países del continente americano como México, la producción de chile (*Capsicum*  
225 *annuum* L.) es afectada por el fitopatógeno anteriormente mencionado y tiene gran una  
226 incidencia (Montero-Tavera *et al.*, 2013). En Cuba, se han investigado alternativas biológicas  
227 para el control de *R. solani* en cultivos de tomate (*Solanum lycopersicum*). Por lo tanto, su  
228 afinidad con la familia Solaneaceae, a la que pertenece *Physalis peruviana* L., es un posible  
229 factor de riesgo e influye en la interacción patógeno hospedero lo que contrasta con el resultado  
230 de este estudio (Chahal, Sokhi y Rattan, 2003).

231 Al ser un patógeno de importancia mundial, el control químico con fungicidas sistémicos es la  
232 opción más sobreexplotada. Sin embargo, está asociada con efectos negativos para la salud  
233 humana, debido a que altera el microbioma del suelo y genera impacto en la naturaleza (Kumhar  
234 *et al.*, 2020). Por ello, surgen nuevas alternativas para el control de *R. solani* como: el  
235 antagonismo con *Trichoderma* spp. (Larios Larios *et al.*, 2019), nanopartículas con extracto de

236 *Aspergillus flavus*, (Kanaujiya *et al.*, 2020), extractos vegetales (Anahi *et al.*, 2013) ,y bioactivos  
237 de hoja de papa (Pane *et al.*, 2020) que generalmente favorecen el crecimiento de las plántulas,  
238 promueven el engrosamiento del tallo y número de hojas en plantas.

239  
240

#### 4. Conclusiones

241 La uvilla es una fruta exótica apreciada mundialmente, cuya producción se ha incrementado  
242 sustancialmente en los últimos años. Como en todos los cultivos, los patógenos pueden causar  
243 pérdidas económicas relevantes. En este estudio, se aisló *R. solani* de plántulas de uvilla con  
244 sintomatología clásica de *damping off* provenientes de un semillero de uvilla en Tabacundo. Este  
245 hallazgo constituye el primer reporte de *R. solani* en semilleros de uvilla a nivel mundial. La cepa  
246 de *R. solani* aislada en este estudio se identificó a través de la secuenciación del fragmento ITS  
247 y fue capaz de inducir la sintomatología característica del *damping off* en plántulas inoculadas  
248 artificialmente. Aunque existen otros hongos, pertenecientes al complejo del mal de semillero  
249 que son causantes de tal enfermedad; en este estudio únicamente se aisló *R. solani*. Este hecho  
250 sienta un precedente para próximos estudios sobre esta enfermedad al ser un cultivo muy  
251 importante en la región interandina, se deben buscar alternativas para el control de *R. solani*.

#### 252 Agradecimientos

253 La realización de este artículo fue financiada por el proyecto “Públícalo” impulsado por la  
254 Pontificia Universidad Católica del Ecuador. Además, los autores muestran gratitud a la empresa  
255 Terrafetil por los materiales e insumos de laboratorio donados al Laboratorio de Fitopatología y  
256 Control Biológico para la culminación de esta investigación.

#### 257 Referencias

258 Abdel-Sattar, M.A., El-Marzouky, H. and Ibrahim, U.E. (2017) Pathogenicity Test and  
259 Anastomosis Group of *Rhizoctonia solani* the Causal Organism of Stem Canker and Black Scurf  
260 Disease of Potato in Egypt. Journal of Applied Plant Protection [en línea], 6 (1), 1–8. Disponible  
261 en <[www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/)> [consulta: 28 Julio 2023].

262 Acuña, I. (2019) Capítulo XII Enfermedades del cultivo de papa presentes en Magallanes, Punta  
263 Arenas: Boletín INIA - Instituto de Investigaciones Agropecuarias. no. 396.

264 Adandonon, A., Aveling, T.A. y Tamo, M. (2004) Occurrence and distribution of cowpea damping-  
265 off and stem rot and associated fungi in Benin. The Journal of Agricultural Science [en línea], 142  
266 (5), 561–566. Disponible en <<https://doi.org/10.1017/S0021859604004629>> [consulta: 1 Octubre  
267 2023].

268 Agrios, G.N. (1998) Fitopatología Disponible en <<https://dialnet.unirioja.es/ejemplar/14022>>  
269 [consulta: 31 Julio 2023].

- 270 Álvarez-Herrera, J. *et al.* (2021) Análisis de la producción de uchuva (*Physalis peruviana* L.)  
271 durante el ciclo de cosechas en invernadero con diferentes láminas de riego. *Revista de la*  
272 *Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales* [en línea], 45 (174), 109–121.  
273 Disponible en: <<https://doi.org/10.18257/RACCEFYN.1239>> [consulta: 29 julio 2023].
- 274 Anahi, S. *et al.* (2013) Extractos vegetales para el control alternativo del damping-off causado  
275 por *Rhizoctonia solani* en plántulas de tomate. *Investigación Agraria* [en línea], 15(1), 23–29.  
276 Disponible en <[http://scielo.iics.una.py/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S2305-06832013000100004&lng=en&nrm=iso&tlng=es](http://scielo.iics.una.py/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2305-06832013000100004&lng=en&nrm=iso&tlng=es)> [consulta: 13 agosto 2023].
- 278 Andrea, O. *et al.* (2011) Aislamiento y patogenicidad de un posible *Pythium aphanidermatum* en  
279 *Jatropha Curcas* L. no tóxica. *Tropical and subtropical agroecosystems* [en línea], 14 (2), 649–  
280 660. Disponible en <[http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1870-04622011000200022&lng=es&nrm=iso&tlng=es](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1870-04622011000200022&lng=es&nrm=iso&tlng=es)> [consulta: 10 Julio 2023].
- 282 Arcos, J. y Zúñiga, D. (2015) Efecto de rizobacterias en el control de *Rhizoctonia solani* en el  
283 cultivo de papa. *Ecología Aplicada* [en línea], 14 (2), 95–101. Disponible en  
284 <[http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1726-22162015000200002&lng=es&nrm=iso&tlng=es](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1726-22162015000200002&lng=es&nrm=iso&tlng=es)> [consulta: 12 Julio 2023].
- 286 Ayala-Armenta, Q. *et al.* (2020) Filogenia y patogenicidad de hongos del suelo asociados con el  
287 complejo de la enfermedad del marchitamiento del tomatillo (*Physalis ixocarpa*) en el norte de  
288 Sinaloa, México, *Revista Europea de Patología Vegetal* [en línea], 157 (4), 733–749.
- 289 Betancourth-García, C. *et al.* (2021) Morphology and pathogenicity of *Rhizoctonia solani* Kühn  
290 associated with potato black scurf in Nariño (Colombia). *Revista Colombiana de Ciencias*  
291 *Hortícolas*, 15 (1), e11821. Disponible en <<https://doi.org/10.17584/RCCH.2021V15I1.11821>>  
292 [consulta: 14 julio 2023].
- 293 Chahal, K., Sokhi, S. and Rattan, G. (2003). Investigations on sheath blight of rice In Punjab,  
294 *Indian Phytopathology* [en línea], 56 (1), 22–26.
- 295 Chavarro-Mesa, E. *et al.* (2021) Diversidad genética de *Rhizoctonia solani* GA-3PT, causa  
296 etiológica del chancro del tallo y la sarna de la papa en Colombia. *Ciencia y Tecnología*  
297 *Agropecuaria* [en línea], 22 (3), e1888. Disponible en  
298 <[https://doi.org/10.21930/rcta.vol22\\_num3\\_art:1888](https://doi.org/10.21930/rcta.vol22_num3_art:1888)> [consulta: 25 de junio 2023]
- 299 Chaves Acuña, W., Díaz, J.L. and Yáñez, J. (2019) Diversity of fungal communities inhabiting  
300 symptomatic leaves of Cape gooseberry (*Physalis peruviana*) in the Ecuadorian Andes. *Revista*  
301 *Ecuatoriana de Medicina y Ciencias Biológicas: REMCB*, 40 (2) 77–86. Disponible en  
302 <<https://doi.org/10.26807/remcb.v40i2.55>> [consulta: 23 de julio 2023].
- 303 Cram, M. (2023) *Damping-off in Tree Nurseries*. Disponible en  
304 <<https://pnwhandbooks.org/plantdisease/pathogen-articles/common/fungi/damping-tree-nurseries>>  
305 [consulta: 1 de agosto 2023].
- 306 Dainello, F.J., Heineman, R.R. y Mulkey, J. (1982) Influence of Seedbed Configuration on Growth,  
307 Development, and Yield in Muskmelon. *Journal of the American Society for Horticultural Science*  
308 [en línea], 107 (3), 445–447. Disponible en <<https://doi.org/10.21273/JASHS.107.3.445>>  
309 [consulta: 30 de julio 2023].
- 310 Desvani, S.D. *et al.* (2018) Morphological characteristics and virulence of *Rhizoctonia solani*  
311 isolates collected from some rice production areas in some districts of Central Java. *AIP*  
312 *Conference Proceedings* [en línea], 2014 (1), 20068. Disponible en  
313 <<https://doi.org/10.1063/1.054472>> [consulta: 23 agosto]
- 314 Díaz Nájera, J.F. *et al.* (2014) Identificación morfológica y por PCR de *Rhizoctonia solani* Kühn a  
315 partir de frutos de calabaza pipiana y su manejo en invernadero. *Biotecnia* [en línea], 16 (3), 17–  
316 21. Disponible en:

317 <<https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=7930477&info=resumen&idioma=SPA>>[cons  
318 ulta: 23 julio 2023].

319 Fatmawati, U. *et al.* (2020) Research *Damping-off* disease reduction using actinomycetes that  
320 produce antifungal compounds with beneficial traits. *Journal of Plant Protection Research* [en  
321 línea], 60 (3), 233–243. Disponible en <<https://doi.org/10.24425/jppr.2020.133318>> [consulta:14  
322 agosto 2023]

323 Félix-Gastélum, R. *et al.* (2007) Identificación y Control Químico de los Agentes Causales de la  
324 Mancha Foliar y la Cenicilla del Tomatillo (*Physalis ixocarpa* Brot.) en el Norte de Sinaloa, México.  
325 *Revista Mexicana de Fitopatología* [en línea], 25 (1), 1–10. Disponible en  
326 <<https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=61225101>> [consulta: 12 Julio 2023].

327 Fischer, G., Almanza-Merchán, P.J. y Miranda, D. (2014) Importancia y cultivo de la uchuva  
328 (*Physalis peruviana* L.). *Revista Brasileira de Fruticultura* [en línea], 36 (1), 01–15. Disponible en  
329 <<https://doi.org/10.1590/0100-2945-441/13>> [consulta: 08 agosto 2023].

330 González Hernández, D. (2002) Estado Actual de la Taxonomía de *Rhizoctonia solani* Kühn.  
331 *Revista Mexicana de Fitopatología* [en línea], 20 (2), 200–205. Disponible en  
332 <<http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=61220211>>[Accessed: 3 septiembre 2023].

333 Grijalba, P.E. y Ridaó, del C. (2017) Control químico de *Pythium* spp. asociados con plántulas de  
334 soja. *Revista de Investigaciones Agropecuarias* [en línea], 43 (1), 67–71. Disponible en  
335 <<https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=5921631&info=resumen&idioma=SPA>>[cons  
336 ulta: 10 Julio 2023].

337 Hassan, O. and Chang, T. (2021) First Report of Damping-Off of Ovate-Leaf Atractylodes Caused  
338 by *Rhizoctonia solani* AG-5 in South Korea. *Mycobiology* [en línea], 49(2), 196–200. Disponible  
339 en <<https://doi.org/10.1080/12298093.2021.1873900>>[consulta: 07 agosto 2023]

340 Van der Heyden, H. *et al.* (2019) Detection and quantification of *Pythium tracheiphilum* in soil by  
341 multiplex real-time qPCR'. *Plant Disease* [en línea], 103 (3), 475–483. Disponible en  
342 <[https://doi.org/10.1094/PDIS-03-18-0419-RE/ASSET/IMAGES/LARGE/PDIS-03-18-0419-  
343 RE\\_F6.JPG](https://doi.org/10.1094/PDIS-03-18-0419-RE/ASSET/IMAGES/LARGE/PDIS-03-18-0419-RE_F6.JPG)>[consulta: 03 septiembre 2023]

344 Instituto de Promoción de Exportaciones e Inversiones (2014) Análisis sectorial: Frutas exóticas  
345 2014. Disponible en  
346 <[http://www.proecuador.gob.ec/wp%20content/uploads/2015/01/PROEC\\_AS2014\\_FRUTASEX  
347 OTICAS11.pdf](http://www.proecuador.gob.ec/wp%20content/uploads/2015/01/PROEC_AS2014_FRUTASEXOTICAS11.pdf)> [consulta:10 Julio 2023].

348 Instituto de Promoción de Exportaciones e Inversiones (2017) Incrementa la exportación de uvilla  
349 deshidratada hacia Alemania en un 160%. Disponible en  
350 <[https://www.proecuador.gob.ec/2017/01/31/incrementa-la-exportacion-de-  
351 uvilla%20deshidratada-hacia-alemania-en-un-160/> \[consulta:10 Julio 2023\].](https://www.proecuador.gob.ec/2017/01/31/incrementa-la-exportacion-de-uvilla%20deshidratada-hacia-alemania-en-un-160/)

352 Kanaujiya, D. *et al.* (2020) Photobiosynthesis of Silver Nanoparticle Using Extract of *Aspergillus*  
353 *flavus* CR500: Its Characterization, Antifungal Activity and Mechanism Against *Sclerotium rolfsii*  
354 and *Rhizoctonia solani*, *Journal of Cluster Science* [en línea], 31 (5),1041–1050. Disponible en  
355 <<https://doi.org/10.1007/S10876-019-01709-2/METRICS>>[consulta: 21 agosto 2023].

356 Koichir, T., Glen, S. and Sudhir, K. (2021) MEGA11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis  
357 version 11.

358 Kumhar, K. *et al.* (2020) Novel Liquid Mycofungicide: An Ideal Approach in Protecting Tomato  
359 from the Damping-off Disease in Nursery. Disponible en <[https://doi.org/10.21203/RS.3.RS-  
360 107831/V1](https://doi.org/10.21203/RS.3.RS-107831/V1)> [consulta: 25 agosto 2023].

361 Lamichhane, J.R. *et al.* (2017) Integrated management of damping-off diseases. A review.  
362 *Agronomy for Sustainable Development* [en línea], 37 (2), 1–25. Disponible en  
363 <<https://doi.org/10.1007/S13593-017-0417-Y>> [consulta: 11 julio 2023].

- 364 Larios Larios, E.J. *et al.* (2019) Biocontrol de *Damping off* y promoción del crecimiento vegetativo  
365 en plantas de *Capsicum chinense* (Jacq) con *Trichoderma* spp. Revista mexicana de ciencias  
366 agrícolas [en línea], 10 (3), 471–483. Disponible en  
367 <<https://doi.org/10.29312/REMEXCA.V10I3.332>> [consulta: 31 junio 2023].
- 368 Legge, A.P. (1974) Notes on the history, cultivation and uses of *Physalis peruviana* L., Journal of  
369 the Royal Horticultural Society [en línea], 99 (7), 310–314.
- 370 Medrano Echalar, A.M. and Ortuño, N. (2007) Control del *Damping off* mediante la aplicación de  
371 bioinsumos en almácigos de cebolla en el Valle Alto de Cochabamba-Bolivia, *Acta Nova* [en  
372 línea], 3 (4), 660. Disponible en  
373 <[http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1683-](http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1683-07892007000200003&lng=es&nrm=iso)  
374 <[07892007000200003&lng=es&nrm=iso](http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1683-07892007000200003&lng=es&nrm=iso)> [consulta: 8 julio 2023].
- 375 Miranda Lasprilla, D. *et al.* (2016) Problemas de campo asociados al cultivo de uchuva (*Physalis*  
376 *peruviana* L.). Disponible en  
377 <[https://www.researchgate.net/publication/305154982\\_Problemas\\_de\\_campo\\_asociados\\_al\\_cu](https://www.researchgate.net/publication/305154982_Problemas_de_campo_asociados_al_cultivo_de_uchuva_Physalis_peruviana_L)  
378 <[ltivo\\_de\\_uchuva\\_Physalis\\_peruviana\\_L](https://www.researchgate.net/publication/305154982_Problemas_de_campo_asociados_al_cultivo_de_uchuva_Physalis_peruviana_L)> [consulta: 8 julio 2023].
- 379 Misawa, T. and Kuninaga, S. (2010) The first report of tomato foot rot caused by *Rhizoctonia*  
380 *solani* AG-3 PT and AG-2-Nt and its host range and molecular characterization. *Journal of*  
381 *General Plant Pathology* [en línea], 76 (5), 310–319. Disponible en  
382 <<https://doi.org/10.1007/S10327-010-0261-2/METRICS>> [consulta: 29 junio 2023].
- 383 Montero-Tavera, V. *et al.* (2013) Diversidad genética de aislados de *Rhizoctonia solani* (Kuhn)  
384 de Chile en México. Revista mexicana de ciencias agrícolas [en línea], 4 (7), 1043–1054.  
385 Disponible en <[http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S2007-](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-09342013000700006&lng=es&nrm=iso&tlng=es)  
386 <[09342013000700006&lng=es&nrm=iso&tlng=es](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-09342013000700006&lng=es&nrm=iso&tlng=es)> [consulta: 12 Julio 2023].
- 387 Moreno-Miranda, C. *et al.* (2018) A Socioeconomic and Productive Characterization of the Value  
388 Chain of Goldenberry (*Physalis peruviana*) in Ecuador, Agricultural Sciences [en línea], 9 (4),  
389 426–436. Disponible en <<https://doi.org/10.4236/AS.2018.94030>> [consulta: 11 julio 2023].
- 390 National Library of Medicine and National Center for Biotechnology Information (no date) National  
391 Center for Biotechnology Information (NCBI). Disponible en <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>>  
392 [consulta: 24 Julio 2023].
- 393 Pane, C. *et al.* (2020) Managing *Rhizoctonia* Damping-Off of Rocket (*Eruca sativa*) Seedlings by  
394 Drench Application of Bioactive Potato Leaf Phytochemical Extracts. *Biology* [en línea], 9 (9), 1–  
395 18. Disponible en <<https://doi.org/10.3390/BIOLOGY9090270>> [consulta: 09 agosto 2023].
- 396 Paulitz, T.C., Okubara, P.A. and Schillinger, W.F. (2007) First Report of Damping-Off of Canola  
397 Caused by *Rhizoctonia solani* AG 2-1 in Washington State. *Plant disease* [en línea], 90 (6), 829–  
398 829. Disponible en <<https://doi.org/10.1094/PD-90-0829B>> [consulta: 09 agosto 2023].
- 399 Pérez, H. and Delgado, I. (2017) Cultivos tropicales de importancia económica en Ecuador (arroz,  
400 yuca, caña de azúcar y maíz). UTMACH. Machala.
- 401 Portalanza, D. *et al.* (2022) Temporal progress of web blight in three common bean genotypes  
402 on the central coast of Ecuador. *Bionatura* [en línea], 7 (1), 1-10. Disponible en  
403 <<https://doi.org/10.21931/RB/2022.07.01.35>> [consulta: 01 octubre 2023].
- 404 Ramadan, M.F. (2011) Bioactive phytochemicals, nutritional value, and functional properties of  
405 cape gooseberry (*Physalis peruviana*): An overview. *Food Research International* [en línea], 44  
406 (7), 1830–1836. Disponible en <<https://doi.org/10.1016/J.FOODRES.2010.12.042>> [consulta: 11  
407 julio 2023].
- 408 Ren, X.X., Zhang, G.Z. and Dai, W.A. (2012) First Report of Damping-off Caused by *Alternaria*  
409 *japonica* on Chinese Cabbage Seedlings in China [en línea], 96 (9), 1378–1378. Disponible en  
410 <<https://doi.org/10.1094/PDIS-04-12-0328-PDN>> [consulta: 2 octubre 2023].

411 Rios-Hernández, T.A. *et al.* (2021) Control biológico de *Fusarium oxysporum*, agente causal de  
412 la pudrición del cormo en gladiolo, mediante estreptomicetos. *Revista mexicana de fitopatología*  
413 [en línea], 39 (3), 391–413. Disponible en <<https://doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.2105-3>>  
414 [consulta: 2 octubre 2023].

415 Rivadeneira, J. *et al.* (2020) Respuesta de UCE -Premium y UCE Allipacha al ataque de  
416 *Phytophthora infestans*, *Rhizoctonia solani* y *Pectobacterium* sp. *Revista Latinoamericana de la*  
417 *Papa* [en línea], 24 (1), 13–30. Disponible en <<https://doi.org/10.37066/ralap.v24i1.387>>

418 Ruiz Gaitan, L., Castellanos González, L. and Jair Villamizar, C. (2018) 'El cultivo de la uchuva  
419 (*Physalis peruviana* L.)', *Revista Científica Agroecosistemas*, 6(1), pp. 46–53. Available at:  
420 <https://aes.ucf.edu/cu/index.php/aes/article/view/163> (Accessed: 16 July 2023).

421 Saygi, S. *et al.* (2020) 'First report of *Rhizoctonia solani* AG 4 HG-I causing damping off and  
422 wirestem of white cabbage in Turkey', *Journal of Plant Pathology*, 102(2), p. 587. Available at:  
423 <https://doi.org/10.1007/S42161-019-00472-7/METRICS>.

424 Senapati, M. *et al.* (2022) 'Plasma metabolome profiling by high-performance chemical isotope-  
425 labelling LC-MS after acute and medium-term intervention with golden berry fruit (*Physalis*  
426 *Peruviana* L.), confirming its impact on insulin-associated signaling pathways. *Nutrients* [en línea],  
427 13 (9), 3125. Disponible en <<https://doi.org/10.3390/NU13093125/S1>>[consulta: 11 julio 2023].

428 Vaillant, F. *et al.* (2021) Plasma metabolome profiling by high-performance chemical isotope-  
429 labelling LC-MS after acute and medium-term intervention with golden berry fruit (*Physalis*  
430 *Peruviana* L.), confirming its impact on insulin-associated signaling pathways. *Nutrients* [en línea],  
431 13 (9), 3125. Disponible en <<https://doi.org/10.3390/NU13093125/S1>>[consulta: 11 julio 2023].

432 Vargas Espinosa, F.M. (2006) *Caracterización del antagonismo a Rhizoctonia solani Kuhn. en*  
433 *suelos papeiros del Ecuador*. Grado. Universidad Central del Ecuador.

434 Villa, G. *et al.* (2013) Vista de Nuevas evidencias del cumplimiento de los Postulados de Koch en  
435 el estudio de las relaciones entre *Phytophthora palmivora* y la Pudrición del cogollo (PC) de la  
436 palma de aceite, *Palmas* [en línea], 34 (4), 73–83. Disponible en  
437 <<https://publicaciones.fedepalma.org/index.php/palmas/article/view/10921/10906>>[consulta: 23  
438 julio 2023].

439 Wantanabe, T. 2002. *Pictorial Atlas of Soil and Seed Fung Morphogies of Cultures Fungi and Key*  
440 *to Species*. Second edition. CRC Press. New York Washington, D.C. 500.

441 White, T.J. *et al.* (1990) Amplification and Direct Sequencing of Fungal Ribosomal RNA Genes  
442 for Phylogenetics, in *PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications*. New York: Academic  
443 Press, pp. 315–322. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-372180-8.50042-1>.

444 Widyaningsih, S. *et al.* (2020) Potency of biofertilizer to control damping off disease and stimulate  
445 plant growth on Japansche Citroen Seedling. *IOP Conference Series: Earth and Environmental*  
446 *Science* [en línea], 458 (1), 012048. Disponible en <<https://doi.org/10.1088/1755-1315/458/1/012048>>[consulta: 11 junio 2023].

448 Yu, H. *et al.* (2021) Pathogenicity, anastomosis groups, host range, and genetic diversity of  
449 *Rhizoctonia* species isolated from soybean, pea, and other crops in Alberta and Manitoba,  
450 Canada, 102(2), 301–315. Disponible en <<https://doi.org/10.1139/CJPS-2021-0039>>[consulta:  
451 01 julio 2023].

452