

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES
ESCUELA DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
CARRERA DE MICROBIOLOGÍA

**Análisis del microbioma foliar de *Physalis peruviana* L afectado por
Entyloma sp. en San José de Minas Ecuador**

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

ARACELY SALOMÉ LEÓN MANTILLA

Quito, 2024

CERTIFICACIÓN

Certifico que la Disertación de grado en Microbiología de la candidata Aracely Salomé León Mantilla ha sido concluida de conformidad con las normas establecidas; por lo tanto, puede ser presentada para la calificación correspondiente.



Mtr. Jeniffer Yanéz Altuna
Directora de disertación
Quito, 07 marzo 2024

DEDICATORIA

Dedico este logro a mis padres, quienes han sido el sólido pilar en mi vida, a mis hermanos, que me han inspirado a perseverar, y a mis abuelos, cuya inquebrantable fe en mí ha sido mi faro. Este triunfo es también suyo.

AGRADECIMIENTOS

A mis padres, por su amor y sacrificio, mis hermanos, por recordarme siempre el valor de la familia y la unidad y a mis abuelos por su sabiduría y guía, por ser una fuente constante de inspiración.

A todas las personas que han tocado mi vida, este logro es el resultado de su amor, apoyo y fe en mí. Deseo manifestar mi más sincera gratitud a cada uno de ustedes.

Cada página de este artículo lleva una parte de ustedes, de las lecciones que me han enseñado y del amor que me han dado. Este logro es tan suyo como mío.

Asimismo, extiendo mi gratitud a Terrafertil por su apoyo constante y su compromiso con la investigación y la innovación en el ámbito agrícola; y a los agricultores de la parroquia San José de Minas, por su generosidad y apertura al permitir el acceso a sus cultivos de uvilla para la toma de muestras, lo que hizo posible la concreción de esta investigación.

Un especial reconocimiento a la Ingeniera Josselyne Briceño, por compartir su conocimiento en los procedimientos de secuenciación de ADN, ya que contribuyeron a enriquecer significativamente este trabajo. Su orientación ha sido esencial para la correcta interpretación de los datos y ha aportado enormemente a la calidad del análisis presentado.

MANUSCRITO PARA LA PUBLICACIÓN

Revista

Revista Ecuatoriana de Medicina y Ciencias Biológicas

Título

Análisis del microbioma foliar de *Physalis peruviana* L afectado por *Entyloma* sp. en San José de Minas Ecuador

Autores

Aracely Salomé León Mantilla*

Correo electrónico

*asleon@puce.edu.ec

Dirección

Laboratorio de Fitopatología y Control Biológico, Carrera de Microbiología, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Quito, Ecuador.

El siguiente trabajo de investigación se presenta en el formato de: Revista Ecuatoriana de Medicina y Ciencias Biológicas a partir de la siguiente página.

Normas para autores: <https://remcb-puce.edu.ec/remcb/Directrices>

Análisis del microbioma foliar de *Physalis peruviana* L afectado por *Entyloma* sp. en San José de Minas Ecuador

Analysis of the leaf microbiome of *Physalis peruviana* L affected by *Entyloma* sp. in San José de Minas Ecuador

Aracely Salomé León Mantilla¹

¹Pontificia Universidad Católica del Ecuador

¹asleon@puce.edu.ec

Resumen

En la Sierra ecuatoriana, la producción de uvilla (*Physalis peruviana*) es amenazada por enfermedades fúngicas, como la causada por el hongo *Entyloma* sp. que provoca manchas foliares que afectan su salud y rendimiento. La identificación tradicional del patógeno es compleja, por lo que se realizó un estudio metagenómico para caracterizar la diversidad microbiana asociada a estas lesiones foliares y verificar la presencia del fitopatógeno. La metodología consistió en la recolección de muestras de hojas afectadas en cultivos de la parroquia de San José de Minas, al noroccidente de Quito. Las muestras fueron transportadas en cadena de frío al laboratorio Biosequence donde se extrajo ADN utilizando kits especializados, y se analizaron mediante secuenciación de nueva generación (NGS), lo que permitió un análisis exhaustivo de las secuencias genéticas para determinar la presencia y abundancia de diferentes taxones fúngicos, utilizando algoritmos bioinformáticos avanzados. Los resultados revelaron que algunos géneros y especies de hongos patógenos y simbiontes coexisten en las hojas de uvilla con manchas foliares, siendo el género *Entyloma* uno de los que prevalecen y otros en menor proporción, además se encontró una proporción significativa de secuencias que no pudieron ser clasificadas, lo que sugiere la existencia de una diversidad microbiana que aún no es catalogada en las bases de datos actuales.

Palabras clave: *Physalis peruviana*, *Entyloma* sp., Metagenómica, Secuenciación de última generación, Hongos fitopatógenos.

Abstract

In the Ecuadorian Sierra, the cultivation of uvilla (*Physalis peruviana*) is threatened by various fungal diseases, including that caused by the fungus *Entyloma sp.* This pathogen is responsible for leaf spots that affect their health and performance. The traditional identification of the pathogen is complex, so a metagenomic study was carried out to characterize the microbial diversity associated with these foliar lesions and verify the presence of the phytopathogen. The methodology was based on the collection of leaves directly affected in the crops of the parish of San José de Minas, in the northwest of Quito. The samples were transported in the cold chain to the Biosequence laboratory where DNA was extracted using specialized kits, and analysis was carried out using next generation sequencing (NGS), which allowed an exhaustive analysis of the genetic sequences to determine the presence and abundance of different fungal, using advanced bioinformatics algorithms. The results revealed that some genera and species of pathogenic fungi and symbionts coexist on the leaves of the uvilla with leaf spots, the genus that predominated was *Entyloma sp.* and others in a lower proportion, also a significant proportion of sequences that could not be classified was found, suggesting the existence of a microbial diversity not yet cataloged in current databases.

Key words: *Physalis peruviana*, *Entyloma sp.*, Metagenomics, Next Generation Sequencing, , *Phytopathogenic fungi*.

Introducción

La uvilla (*Physalis peruviana*) es una planta de la familia de las solanáceas, procede de Sudamérica y se cultiva en varios países de la zona andina. Es un pequeño arbusto que suele alcanzar una altura de entre 60 y 100 centímetros. Sus hojas son acorazonadas y de color verde intenso. El fruto de la uvilla es una pequeña baya redonda de uno a dos centímetros de diámetro (Hidayat et al., 2021; Oliveira et al., 2016). Su capa es de un tono amarillo intenso y tiene un envoltorio en forma de hoja que recuerda a una linterna o farol. En el interior de la cáscara se encuentran pequeñas semillas rodeadas de una pulpa ámbar y jugosa que es la parte comestible. Esta pulpa tiene un sabor agridulce que suele ser muy característico y apreciado por sus consumidores (Puente et al., 2011). El extracto etanólico de los frutos de la uvilla contiene compuestos valiosos y activos como carotenoides, fenoles, flavonoides, tanino, alcaloides, vitaminas C, B3 y B6. Además, posee actividad antioxidante y antimicrobiana contra bacterias Gram positivas y Gram negativas (El-Beltagi et al., 2019; Ruilova et al., 2017).

En Ecuador, se produce en altas cantidades por el suelo y el clima característico de los valles interandinos. En los años 80, se inició la exportación de esta fruta, y en los últimos años, se ha incrementado (Altamirano, 2010; Moreno-Miranda et al., 2019). Debido a su alto contenido en vitaminas y a sus beneficios para la salud, este cultivo ha ganado popularidad en los mercados internacionales (Rodríguez et al., 2021). Los cultivos de uvilla son de gran importancia económica en Ecuador. Las plantaciones van desde 300 a 500 hectáreas, con un rendimiento de seis a 20 toneladas por hectáreas. Por ejemplo, solo la provincia de Pichincha representa el 27% de este cultivo en el país. Así, la producción y comercialización de uvilla constituyen una fuente significativa de ingresos para los productores nacionales. La alta demanda tanto en el mercado local como en el internacional ha impulsado el crecimiento de este cultivo, brindando oportunidades económicas sostenibles para los agricultores (Rodríguez et al., 2021). Otro factor importante es el aumento de las exportaciones de uvilla ecuatoriana en los últimos años, lo que ha contribuido a reforzar la economía nacional (Rodríguez et al. 2021). Además, el cultivo repercute significativamente en la creación de puestos de trabajo. Dado que el proceso de cultivo implica numerosas tareas, como el cribado, el mantenimiento de las plantas, el troceado y el procesado, se necesita mano de obra intensiva (Moreno-Miranda et al., 2019). Por otra parte, por la extensión de terreno ocupada y la abundante recolección de frutos, esta especie es sensible a presentar

enfermedades y plagas que afectan las distintas estructuras de la planta, en especial a las hojas (Díaz, 2016). Los daños en esta fruta se producen durante todo el ciclo del cultivo y postcosecha (Altamirano, 2010). Así, las plagas se presentan en suelo y follaje: insectos como minadores y chupadores de savia, ácaros, moluscos y algunas aves (Miranda et al., 2016). Entre las enfermedades se encuentran aquellas producidas por virus, bacterias, fitoplasmas, hongos, entre otros. El hongo más común que afecta a la hoja de uvilla es *Fusarium oxysporum* que produce el marchitamiento vascular (Carvajal, 2020) y también, *Cercospora spp.* como el agente causal de la mancha foliar (Paredes et al., 2021). El hongo basidiomycete *Entyloma*, produce la enfermedad conocida como carbón blanco, este es un género de hongos tizones en la familia *Entylomataceae*. El género fue descrito por Anton de Bary en 1874, y se estima que existen unas 180 especies (Begerow et al., 2010). Este hongo produce teliosporas con basidiocarpos similares a basidioides que producen basidiosporas en el ápice (Marshall, 1997). El género de hongos *Entyloma* exhibe una marcada especificidad de hospedador, lo que implica que diferentes especies dentro de este género muestran la capacidad de infectar selectivamente ciertas especies o géneros de plantas. Es el caso de *Entyloma eranthidis*, el cual se especializa en la infección de *Eranthis longistipitata* (Denchev et al., 2021), y *Entyloma majewskii* identificado como un agente patógeno de *Ranunculus ficaria* (Vanky y Lutz, 2010).

La combinación de la caracterización morfológica, la información genética y los datos de hospedador generalmente son suficiente para la identificación precisa de especies específicas dentro de este género de hongos. Su patrón distintivo de densas manchas foliares y su coloración característica permiten identificarlos (Savchenko et al., 2014). Sin embargo, para el análisis y categorización de las diversas especies de *Entyloma*, se hace uso de técnicas moleculares como la secuenciación de regiones específicas del ADN como el espaciador transcrito interno (ITS, por sus siglas en inglés) del ARNr (Denchev et al., 2021). En el caso del hongo *Entyloma*, no se encuentran disponibles primers específicos, por lo que se puede recurrir a la metagenómica, que es una técnica que permite el análisis del material genético de una muestra sin necesidad de cultivar los microorganismos presentes en ella (Stefanini y Cavalieri, 2018; Yunga y Arévalo, 2017). La metagenómica es un campo de estudio que implica el análisis de material genético recuperado directamente de muestras ambientales (Le Goallec et al., 2020). Esta técnica se basa en la secuenciación masiva de ADN y permite la identificación de especies fúngicas a partir de la comparación de las secuencias obtenidas con bases de datos de referencia. Además, permite la

identificación de nuevos linajes fúngicos y la caracterización de la diversidad microbiana en diferentes ambientes (Martínez, 2019; Valdes et al., 2020; Yu et al., 2021). Actualmente, la metagenómica implica la extracción de los genomas de todos los microorganismos presentes en la muestra y su secuenciación y análisis (Rivera-Urbalejo et al., 2021). Este análisis secuenciará el ADN o ARN presente en la muestra para identificar todos los microorganismos presentes, lo que puede permitir la detección de hongos fitopatógenos específicos o incluso de nuevos patógenos que no se conocían previamente (Silva, 2021, Handelsman, 2004). Datta et al., (2020) revisan la aplicación de la metagenómica para la biorremediación, la monitorización de la contaminación, el descubrimiento de enzimas y fármacos, destacando la capacidad de la tecnología para estudiar material genético directamente aislado de muestras ambientales y revelar conocimientos sobre comunidades microbianas de organismos no cultivables en nichos ambientales. Así, estos estudios sugieren que los procesos metagenómicos ofrecen un enfoque prometedor para reconocer el material genético de los hongos y presentan varias ventajas sobre los métodos tradicionales.

En este contexto, este estudio orienta la atención hacia la detección de la presencia del género *Entyloma* en las plantas de uvilla. Para lograr este propósito, se analizaron las especies de hongos presentes en el microbioma foliar mediante el análisis metagenómico de muestras provenientes de uvilla cultivada en San José de Minas. Esta información contribuirá al entendimiento del microbiota presente y su relación con el manejo de las problemáticas fitopatológicas de este cultivo en la región.

Materiales y métodos

El estudio se realizó en la parroquia San José de Minas, al noroccidente de la ciudad de Quito, en la región Sierra de Ecuador, donde el cultivo de uvilla es significativo (Fig. 1). Las provincias de Imbabura y Pichincha (Paredes et al. 2021) se reportan como localidades importantes para el cultivo de la fruta.

Se seleccionaron plantas con síntomas de carbón blanco en sus hojas. Las manchas típicas se presentan sobre el haz de las hojas, pequeñas, blancas, circulares (0,5 a 1 cm de diámetro), y alrededor de la mancha se presenta un anillo pardo-violáceo. Las hojas se recolectaron de manera aleatoria en distintos lotes con cultivos de *Physalis peruviana* y se cortaron con tijeras podadoras desinfectadas. Las muestras se colocaron en fundas nuevas de cierre hermético y se etiquetaron

con código, fecha y georreferencia. Se transportaron en cadena de frío (4 °C), para mantenerlas en condiciones óptimas hasta su llegada al laboratorio Biosequence de la ciudad de Quito para su procesamiento (Sánchez et al. 2021).

La caracterización morfológica se realizó comparando e identificando la sintomatología producida por el hongo *Entyloma* en las hojas obtenidas mediante bibliografía e imágenes de referencia (Fig. 1), como lo describen Moncayo (2020) y Alberca (2018).

Todas las muestras de hojas de uvilla se colocaron en un contenedor, donde se maceraron para obtener una mezcla homogénea. Se tomaron alícuotas aleatorias de 200 mg de esta mezcla, se colocaron en tubos de ensayo estériles de aproximadamente 0.1 a 0.5 mm con tapas propias. La maceración es una etapa fundamental en la preparación de las muestras para el análisis metagenómico, ya que permite una distribución uniforme del material genético presente en las hojas y ayuda a obtener una representación más precisa de la población total de microorganismos presentes en la planta. Dado que el hongo *Entyloma* puede variar en su distribución dentro de la planta, la maceración y la selección aleatoria de muestras contribuyen a obtener resultados más fiables y significativos (Briceño, comunicación personal 2023).

Para la extracción del material genético se usó el kit ZymoBIOMICS DNA Kit, este sistema extrae ADN total a partir de una variedad de muestras, incluyendo suelo, heces, agua, biopelículas y células bacterianas/fúngicas. El kit contiene columna de centrifugación, buffer de extracción, buffer de lavado y buffer de elusión. El material de la columna atrapa el ADN, mientras que las otras soluciones están diseñadas para romper las células y eliminar otras moléculas de la muestra. El kit usado también permitió asegurar la calidad del ADN, a través del lavado con perlas magnéticas para limpiar dímeros o residuos de reactivo o de ADN no deseados. Esto permitió obtener ADN limpio y puro, que facilita la secuenciación e identificación (Ecogen, 2018).

El ADN de la muestra fue amplificado mediante dos PCR. La primera PCR para la amplificación de la región 16S y la región ITS, y la segunda PCR para la obtención de las librerías con los índices de codificación de la muestra. Esta región se utiliza a menudo para la identificación por ser altamente conservado entre las diferentes especies de hongos. Se utilizaron los cebadores ITS86F (GTGAATCATCGAATCTTTGAA) e ITS4R (TCCTCCGCTTATTGATATGC) para amplificar

la región ITS2. Este se refiere a una región de ADN específica que se localiza en el espacio intergenómico situado entre los genes ribosómicos 18S y 5.8S (Grijalva et al.,2011).

También se llevaron a cabo cuatro corridas por electroforesis como una de las medidas de control de calidad. Primera: Verificación de la presencia del ADN genómico; Segunda: Verificación de la presencia del amplicón 16S o ITS; Tercera: Verificación de la presencia de las librerías preparadas; y Cuarta: Verificación de la presencia del pool de secuenciación previo el ingreso al secuenciador realizó el indexado, que es el proceso de codificación a cada una de las muestras. Además, se prepararon librerías, que son colecciones de secuencias de ADN que se utilizan para identificar diferentes especies de organismos (Hunan Provincial Resuscitation Quality Control Center, 2023).

El ADN obtenido fue secuenciado mediante la tecnología Illumina. Esta técnica de secuenciación de alto rendimiento (Next Generation Sequencing, NGS) puede generar rápidamente grandes cantidades de datos que se almacenan en archivos FASTQ (Contero y Cachipundo, 2021). Los archivos FASTQ son archivos de texto que contienen la secuencia de ADN, la calidad de la secuencia y otra información sobre la muestra. Son utilizados por una variedad de programas de software para el análisis de datos de secuenciación. Las secuencias generadas fueron comparadas en las bases de datos de Illumina y de CosmosID®, para la detección a nivel de especie de microorganismos en cualquier muestra compleja, desde el año 2008 se empleó para mejorar la comprensión de la salud y las enfermedades humanas (CosmosID, 2023), actualmente tiene más aplicaciones en todos los ámbitos de la naturaleza.

Los resultados se presentaron mediante la asignación taxonómica se realizó a partir del análisis metagenómico de las muestras, lo que involucra la secuenciación de fragmentos de ADN presentes en la muestra, cada fragmento secuenciado se denomina "lectura". Estas secuencias se compararon contra las bases de datos de referencia Illumina y CosmoID. Mediante programas de alineación y comparación, se asignaron las secuencias a taxones específicos (como género y especie) basados en similitudes genéticas (Rodríguez-Tudela et al., 2008). Después de asignar las secuencias a taxones específicos, se contaron las lecturas que se asignaron a cada clasificación taxonómica. Todo ello permitió realizar el cálculo del porcentaje de abundancia relativa, que proporciona el porcentaje de lecturas que se atribuyen a cada género en relación con el total (Alberca, 2018).

El índice de abundancia relativa es una medida utilizada para entender la proporción de diferentes organismos presentes en una muestra. En este caso, el porcentaje de abundancia relativa se calcula basándose en la frecuencia con la que se detecta el ADN de un organismo específico, como un hongo, en una muestra. Durante el proceso de secuenciación de ADN, se obtienen lecturas de las secuencias de ADN presentes en la muestra. Así, un mayor número de lecturas correspondientes a un organismo específico indica una mayor presencia o abundancia de ese organismo en la muestra. Para calcular el porcentaje de abundancia relativa, se realiza una comparación entre el número de lecturas que coinciden con un organismo específico en una base de datos genética y el total de lecturas obtenidas de la muestra. Es decir, si un hongo en particular tiene muchas lecturas que coinciden con su secuencia genética en la base de datos, esto sugiere que tiene una alta abundancia relativa en la muestra. El cálculo se hace dividiendo el número de lecturas que corresponden a un organismo por el número total de lecturas, y luego multiplicando el resultado por 100 para expresarlo en porcentaje (Briceño. 2023).

Resultados

Dentro del conjunto de datos presentado, se observa un total de 40,761 eventos de secuenciación o lecturas, una cifra que refleja la magnitud del análisis realizado. Resulta particularmente destacable que el 100 % de estas lecturas haya superado el proceso de filtrado de calidad. Esto implica que la totalidad del conjunto de datos cumple con los umbrales de calidad predeterminados, garantizando así la integridad y la precisión metodológica de la información obtenida. Tal consistencia en la calidad de las lecturas sugiere una excelente fidelidad en la captura de datos y proporciona una base sólida para posteriores análisis estadísticos o interpretaciones biológicas. En este estudio, la preponderancia de las bases de secuenciación alcanzó una calidad de puntuación Q de 30 o superior, indicativo de una secuenciación de alta fidelidad y conforme a los estándares de excelencia establecidos por Illumina 2000.

De acuerdo a los resultados obtenidos detallados en la Tabla 1 se evidencia que a nivel de reino el total de lecturas clasificadas fue el 99,85%, a nivel de género fue posible la clasificación de muestras cerca de su totalidad con un 95,99 % de lecturas clasificadas, mientras que a nivel de especies se obtuvo un 86,10 % de lecturas clasificadas, en este último la clasificación fue menor debido a la limitada información en las bases de datos actuales. Con base en la Tabla 2 a nivel de

reino, el 99,75 % de lecturas pertenecen al reino Fungi, lo que sugiere que las hojas de uvilla están colonizadas por una comunidad muy amplia de estos microorganismos.

El total de especies del reino Fungi encontradas en el análisis fueron 579, en la Tabla 3 se presentan las 20 especies que se encontraron en mayor proporción de acuerdo al índice de abundancia, que se identifica con el número de lecturas realizadas, entre mayor número de lecturas correspondientes a un organismo específico indica una mayor presencia o abundancia de ese organismo en la muestra. Estos resultados revelan la diversidad microbiana asociada a las manchas foliares en cultivos de *Physalis peruviana*.

En la Tabla 3 se evidencia que se identificó una comunidad diversa de hongos, mediante el uso de las bases de datos Illumina y COSMOSID, donde las especies *Vishniacozyma carnescens*, *Entyloma cosmi* y *Boeremia sambucinigrae* fueron los más abundantes, con porcentajes de lectura de 12,966 %, 12,242 % y 11,908 %, respectivamente. Esto sugiere que estas tres especies de hongos juegan un papel significativo en la ecología del microbiota foliar de la uvilla. Además, se observa que las especies identificadas pertenecen principalmente a los filos *Basidiomycota* y *Ascomycota*, y distintas clases como *Tremellomycetes* y *Dothideomycetes*. Esto indica un ecosistema fúngico diverso presente en las hojas de *Physalis peruviana*.

Con el estudio se confirmó la presencia del hongo de género *Entyloma*, siendo la especie *Entyloma cosmi* la que representaba una proporción significativa de las lecturas secuenciadas. Esta especie está relacionada con enfermedades en plantas, lo que podría tener implicaciones en la salud de los cultivos de uvilla si su abundancia es indicativa de una infección.

Asimismo, el análisis refleja que el 4,01% de las lecturas correspondían a un conjunto de hongos no identificados o no clasificados que no estaban presentes en la base de datos utilizada para la comparación de datos. Se trata de un hecho habitual en los estudios metagenómicos, ya que la identificación de microorganismos puede resultar complicada debido a la falta de genomas de referencia o de bases de datos para determinadas especies o cepas.

El número de lecturas que refleja la abundancia relativa mostrado en la Tabla 3 evidencia que hay una cantidad de especies (las primeras 20) que conforman una gran parte del perfil de diversidad

fúngica de la muestra, lo cual es una característica típica de muchas comunidades biológicas, donde pocas especies son muy abundantes y muchas especies son relativamente raras.

Discusión

La identificación de especies como *Entyloma cosmi* es directamente relevante para los objetivos del estudio, ya que esta especie está asociada con la enfermedad conocida como carbón blanco en uvilla. *Entyloma* es un género de hongos del tizón que infecta a las dicotiledóneas, incluidas las plantas de la familia *Apiaceae*, como *Eryngium* y *Sanicula* (Savchenko et al., 2014). El hongo produce esporidios en forma de aguja y alantoides que causan síntomas característicos de infección. Por lo general, se considera que las especies de *Entyloma* son específicas de un hospedador, pero se ha notificado que algunas especies tienen un amplio rango de hospedadores, lo que puede indicar que representan complejos de especies especializadas. *E. cosmi* que causa densos mantos foliares blancos en la atractiva planta *Cosmos bipinnatus* (Lutz y Piątek, 2016), *E. dahliae* perjudica a *Dahlia sp.*, causando manchas foliares de un color granate que va de claro a oscuro en el centro, lo mismo ocurre con *E. eryngii-alpini*, *E. fuscum*, *E. gaillardianum* y *E. helianthi*, que afectan a *Eryngium alpinum*, *Papaver sp.*, *Gaillardia sp.* y *Helianthus annuus*, respectivamente, causando idénticas lesiones foliares con un tono granate que va de claro a oscuro en el centro (Luo et al., 2014). Se reporta, además, la presencia de otros hongos en lesiones causadas por *Entyloma*, como *Itersonilia perplexans* y *Tilletiopsis washingtonensis*, y destacan la importancia de la investigación detallada de patógenos de amplio rango de hospedadores de grupos de patógenos de plantas que de otro modo estarían especializados. Sin embargo, se destaca la importancia de generar información sobre la morfología, filogenia y especificidad de hospedador de los hongos *Entyloma* (Denchev et al., 2021; Savchenko et al., 2014).

Además, se evidencia la presencia de una alta diversidad de especies fúngicas como: el hongo *Boeremia sambuci-nigrae* (anteriormente *Phoma sambuci-nigrae*) que causa la enfermedad del marchitamiento del corimbo en el saúco (Walter H et al., 2016). También *Cercospora delaireae* causante de manchas foliares subcirculares a angulares, de color marrón grisáceo, deformación de hojas y disminución en la cosecha (Groenewald J et al., 2013) y *Boeremia exigua* que induce manchas en las hojas, lesiones en tallos y muerte regresiva (Henricot B, 2012), lo que sugiere una compleja interacción entre los hongos y la planta de uvilla, la comprensión de esta interacción es esencial para manejar la salud de las plantas y mejorar las prácticas agrícolas. Según Dávila, Acuña

y Yáñez (2018), las comunidades de hongos se han adaptado a una amplia variedad de entornos con requisitos fisiológicos distintivos que impactan la diversidad de especies y la colonización en tejidos vegetativos de una variedad considerable de especies de plantas.

Adicionalmente se encontraron en la hoja de uvilla fitopatógenos como *Cercospora delaireae* (Paredes et al, 2021) encontraron en su estudio la presencia de este mismo hongo al analizar la región ITS de sus muestras, por otro lado, Vega (2023) identificó una plaga que afecta a las hojas de uchuva, es el hongo de género *Ascochyta sp.*, también hallado en la presente investigación. Asimismo, el hongo *Entyloma cosmi* fue uno de los fitopatógenos de mayor proporción, Góngora et al (2006) determinaron la especie *Entyloma australe* como la de mayor incidencia en las hojas de uvilla, si bien no se trata de la misma especie que la encontrada en este estudio, esto nos demuestra la presencia del género *Entyloma sp.* en los cultivos de uvilla.

En lo que respecta al género *Vishniacozyma*, la literatura consultada no arroja luz sobre su papel específico como fitopatógeno o simbiote, es importante mencionar que dentro de este género se encuentren diversas especies, cada una con la capacidad de asumir roles variados en contextos particulares de acuerdo con lo mencionado por Montiel et al. (2020). En síntesis, la función y el impacto de estos géneros de hongos en la muestra presentan matices y sutilezas que requieren una exploración más detallada para determinar sus roles precisos en esta interacción microbiana y su posible influencia en la salud y desarrollo de las plantas huéspedes.

En el caso de *Entyloma*, previamente destacado como uno de los géneros predominantes, la delimitación de su función como fitopatógeno o simbiote dentro de este contexto específico no se detalla con precisión. Cabe señalar que el hongo *Entyloma* tiene la capacidad de inducir enfermedades en las plantas huéspedes, como el carbón blanco, caracterizado por la formación de lesiones y manchas en las partes afectadas de las plantas (Cadena y Poma, 2022). Es relevante subrayar que la considerable presencia de *Entyloma* en la muestra corrobora su existencia y sugiere su posible papel como agente fitopatógeno.

En estudios previos, se han diseñado cebadores específicos para ciertas especies de *Entyloma* que se unen a regiones genéticas únicas de esas especies fúngicas. Estos cebadores se utilizan en reacciones de PCR para amplificar selectivamente el ADN del hongo en cuestión cuando está presente en una muestra, facilitando su detección y análisis subsiguiente (Poggi et al., 2009). Sin

embargo, antes de empezar este estudio, no se conocía la especie de *Entyloma*, por lo que se utilizaron cebadores para regiones más generales del ADN fúngico, como la región del espacio intergénico transcripcional (ITS), que, si bien no es exclusiva de *Entyloma*, permitió la identificación de una amplia gama de hongos, incluido *Entyloma*.

En este estudio, se identificaron varios niveles de clasificación fúngica. A nivel de filo, se identificaron ocho, destacando principalmente Ascomycota y Basidiomycota. Se reconocieron 28 clases, cuyas principales se detallan en la Tabla 3. En cuanto a los órdenes, se encontraron 76, y los más representativos se pueden consultar en la Tabla 3. Se descubrieron 167 familias y 279 géneros, cuyos principales representantes también están en la Tabla 3. Finalmente, se identificaron 434 especies, de las cuales las 20 más destacadas se muestran en la Tabla 3. Al contrastar estos resultados con la base de datos del Catalogue of Life, que ofrece una descripción estadística de los niveles de clasificación fúngica, se detalla lo siguiente: se registran once filos, 59 clases, 268 órdenes, 1061 familias, 12578 géneros y 154534 especies (Catalogueoflife, 2024). Es notable que algunos de los valores obtenidos en el estudio se aproximan a los que se describen en esta base de datos. Sin embargo, otros aún distan de los hallazgos reportados con la realidad.

La metodología aplicada en este estudio fue esencial para la identificación de especies fúngicas asociadas a las lesiones foliares presentes en las hojas de uvilla, esta contribuyó a lograr la clasificación de un alto porcentaje de especies presentes en las muestras analizadas. Pires et al., (2019) aplicó una metodología similar a la realizada en este estudio ya que introdujo los datos de secuenciación en un programa de análisis bioinformático para determinar el porcentaje de similitud entre las secuencias de ADN comparadas y clasificar las secuencias de ADN en distintas categorías, lo que permitió una organización que reflejaba el grado de parentesco genético; y menciona que la secuencia de operaciones realizadas permitieron una identificación precisa y una caracterización más detallada de la diversidad genética presente en la muestra, conectando así las secuencias de ADN obtenidas con las presentes en la base de datos de referencia de manera sistemática y rigurosa.

La calidad de secuenciación contribuyó con la identificación de un alto de porcentaje de hongos en las hojas de uvilla, Hibbett et al., (2016), indican que la calidad de los datos de secuencias es crucial para la identificación precisa de los microorganismos y sus funciones. Además de ello, es

determinante reconocer la calidad de la secuenciación de las muestras de ADN obtenidas en un estudio metagenómico. Al respecto, Cale et al. (2021) descubrieron por ejemplo que la elección de los métodos para muestrear, secuenciar y analizar el ADN puede influir en la estimación de la composición de una comunidad fúngica.

Dada la notable calidad del ADN encontrado en las muestras, se pudieron realizar un total de 40761 lecturas, este resultado se asocia al número de veces que cada base de ADN fue secuenciada en el presente estudio, este proceso se conoce como profundidad de secuenciación. Una profundidad de secuenciación más alta significa que hay más datos para analizar, lo que puede conducir a una mejor identificación y caracterización de los microorganismos presentes en la muestra. (Yunga y Arévalo, 2017).

Además, la presencia de un porcentaje sustancial de lecturas no clasificadas a nivel de especie sugiere la posibilidad de la existencia de especies de hongos adicionales que aún no han sido catalogadas en la base de datos utilizada. Este hallazgo subraya la importancia de mantener bases de datos actualizadas y comprensivas para garantizar una identificación precisa de las especies presentes en las muestras (Yunga y Arévalo, 2017).

Conclusiones

El estudio realizado en la parroquia San José de Minas, Ecuador, sobre la diversidad microbiana asociada a las manchas foliares en cultivos de uvilla (*Physalis peruviana*), atribuidas al hongo *Entyloma sp.*, ha ampliado de manera significativa nuestro entendimiento del microbiota foliar y su relación con las enfermedades de las plantas. La detección metagenómica de una variedad de especies fúngicas, con especial atención en la presencia de *Entyloma sp.*, resalta la complejidad y riqueza del ecosistema microbiano que reside en las hojas de la uvilla. Los resultados del estudio ponen de manifiesto la dominancia de ciertos hongos, así como la presencia de una cantidad considerable de secuencias no clasificadas, lo que sugiere la existencia de una biodiversidad aún por caracterizar y la necesidad de bases de datos taxonómicas más comprensivas y actualizadas.

La relevancia de este trabajo reside en su aporte al conocimiento de las interacciones planta-microbio, donde tanto organismos patógenicos como potencialmente beneficiosos coexisten y configuran la salud del cultivo de uvilla. Al identificar la diversidad específica de hongos asociada

con la fisiopatología de las manchas foliares, este estudio contribuye a la fitopatología y la agronomía, abriendo la posibilidad de desarrollar estrategias de manejo agrícola más dirigidas y efectivas. La adopción de enfoques metagenómicos como el empleado en este estudio representa un paso adelante en la agricultura de precisión, permitiendo anticipar, diagnosticar y controlar enfermedades de las plantas de manera más eficaz y sostenible.

Agradecimientos

A mis padres, por su amor y sacrificio, mis hermanos, por recordarme siempre el valor de la familia y la unidad y a mis abuelos por su sabiduría y guía, por ser una fuente constante de inspiración.

A todas las personas que han tocado mi vida, este logro es el resultado de su amor, apoyo y fe en mí. Deseo manifestar mi más sincera gratitud a cada uno de ustedes.

Cada página de este artículo lleva una parte de ustedes, de las lecciones que me han enseñado y del amor que me han dado. Este logro es tan suyo como mío.

Asimismo, extiendo mi gratitud a Terrafertil por su apoyo constante y su compromiso con la investigación y la innovación en el ámbito agrícola; y a los agricultores de la parroquia San José de Minas, por su generosidad y apertura al permitir el acceso a sus cultivos de uvilla para la toma de muestras, lo que hizo posible la concreción de esta investigación.

Un especial reconocimiento a la Ingeniera Josselyne Briceño, por compartir su conocimiento en los procedimientos de secuenciación de ADN, ya que contribuyeron a enriquecer significativamente este trabajo. Su orientación ha sido esencial para la correcta interpretación de los datos y ha aportado enormemente a la calidad del análisis presentado.

Conflicto de intereses

La autora declara que no existe ningún conflicto de interés y contribución de autores.

Referencias bibliográficas

Alberca A. 2018. Una nueva taxonomía de colecciones y de funciones de similitud para su comparación. *Pensamiento Matemático*. <https://www.semanticscholar.org/paper/Una-nueva-taxonom%C3%ADa-de-colecciones-y-de-funciones-Alberca/a47d4c0030b8af923c49fb8a0070228ccada0679>

Altamirano A. 2010. Estudio de la cadena productiva de uvilla (*Physalis peruviana* L.) en la Sierra norte del Ecuador [bachelorThesis, Quito: USFQ, 2010]. <http://repositorio.usfq.edu.ec/handle/23000/950>

Alvarenga M, Luan S, Godano M, Monteiro B, Reis T, Amato Moreira R, Do Céu Monteiro Da Cruz M. 2014. Lesiones de *Tetranychus ludeni* (Acari: Tetranychidae) en el cultivo de *Physalis peruviana* (Solanaceae) en Diamantina, Brasil. *Revista Colombiana de Entomología*, 40(2), 187-189.

Begerow D, Nilsson H, Unterseher M, Maier W. 2010. Current state and perspectives of fungal DNA barcoding and rapid identification procedures. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 87(1), 99-108. <https://doi.org/10.1007/s00253-010-2585-4>

Cadena F, Poma E. 2022. Manejo de la moniliasis del cacao (*Moniliophthora roreri*) con la aplicación de dos especies de *Trichoderma*. *Revista de Investigación e Innovación Agropecuaria y de Recursos Naturales*, 9(2), 37-43. <https://doi.org/10.53287/toks1912pc491>

Cale J, Scott N, Pec J, Landhäuser S, y Karst J. 2021. Choices on sampling, sequencing, and analyzing DNA influence the estimation of community composition of plant fungal symbionts. *Applications in Plant Sciences*, 9(9-10), e11449. <https://doi.org/10.1002/aps3.11449>

Carvajal E. 2020. Respuestas de defensa inducidas por Acibenzolar-S-Metil (ASM) en plantas de uchuva (*Physalis peruviana*) (M. X. Rodríguez Bocanegra, Ed.). <https://doi.org/10.11144/Javeriana.10554.12021>

Contero R, Cachipundo C. 2021. Calidad del agua y de la leche en sistemas de ordeño manual de la Sierra Norte del Ecuador. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 32(4), e20937. <https://doi.org/10.15381/rivep.v32i4.20937>

CosmosID. 2023. Microbiome Bioinformatics—Metagenomics Services.

Datta S, Rajnish K, Samuel M, Pugazhendhi A, Selvarajan E. 2020. Metagenomic applications in microbial diversity, bioremediation, pollution monitoring, enzyme and drug discovery. A review. *Environmental Chemistry Letters*, 18(4), 1229-1241. <https://doi.org/10.1007/s10311-020-01010-z>

Dávila MF, Chaves-Acuña W, Yáñez J. 2018. Fungal communities associated with symptomatic

leaves of naranjilla (*Solanum quitoense* Lam.) in the Ecuadorian Amazon region. *Rev Ecuat Med Cienc Biol.* 39(1):39–49. doi:10.26807/remcb.v39i1.561.

Denchev T, Denchev C, Kemler M, Begerow D. 2021. *Entyloma eranthis* sp. Nov. On *Eranthis longistipitata* from Uzbekistan. *Mycotaxon*, 136(2), 373-385. <https://doi.org/10.5248/136.373>

Díaz J. 2016. Caracterización molecular y análisis filogenético de hongos microscópicos asociados a manchas foliares en hojas de uvilla (*Physalis peruviana* L.) en varias localidades del cantón Quito, Pichincha. [bachelorThesis, PUCE]. <http://repositorio.puce.edu.ec:80/handle/22000/12516>

Díaz JL, Chaves-Acuña W, Yáñez J. 2019. Diversity of fungal communities inhabiting symptomatic leaves of Cape gooseberry (*Physalis peruviana*) in the Ecuadorian Andes. *Rev Ecuat Med Cienc Biol.* 40(2):77–86. doi:10.26807/remcb.v40i2.55.

Donovan, D, Gonzalez G, Higgins G, Butler G, Ito K. 2018. Identification of fungi in shotgun metagenomics datasets. *PLOS ONE*, 13(2), e0192898. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0192898>

Ecogen. (2018). ZymoBIOMICS DNA Microprep Kit. Ecogen. <https://www.ecogen.com>

El-Beltagi S, Mohamed I, Safwat G, Gamal M, Megahed H. 2019. Chemical Composition and Biological Activity of *Physalis peruviana* L. *Gesunde Pflanzen*, 71(2), 113-122. <https://doi.org/10.1007/s10343-019-00456-8>

Ferreira J, Almeida O, Fariña A, Kitajima W, Bedendo P. 2022. Phytoplasma of 16SrVII-B subgroup associated to shoot proliferation in *Physalis peruviana* plants. *Scientia Agricola*, 79.

Gracia ACGSPR. 2006. Incidencia de las enfermedades en uchuva.

Grijalva P, Ridao A, Guillin E. 2011. Caracterización taxonómica y análisis de la variabilidad del agente causal del cancro del tallo de la soja en Buenos Aires (2005/2007). <https://www.redalyc.org/pdf/864/86421245015.pdf>

Groenewald JZ, Nakashima C, Nishikawa J, Shin D, Park H, Jama AN, Groenewald M, Braun U, Crous PW. 2013. Conceptos de especies en *Cercospora*: detectar las malas hierbas entre las rosas. *Estudios de Micología*, 75, 115-170. <https://doi.org/10.3114/sim0012>

Henricot B. 2012. Ocurrencia de *Boeremia exigua* var *heteromorpha* en *Nerium oleander* en el Reino Unido. *Informes de nuevas enfermedades*, 26 (1), 20–20. <https://doi.org/10.5197/j.2044-0588.2012.026.020>

Handelsman J. 2004. Metagenomics: Application of Genomics to Uncultured Microorganisms. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 68(4), 669-685. <https://doi.org/10.1128/mubr.68.4.669-685.2004>

Hibbett D, Abarenkov K, Kõljalg U, Öpik M, Chai B, Cole J, Wang Q, Crous P, Robert V, Helgason T, Herr R, Kirk P, Lueschow S, O'Donnell K, Nilsson H, Oono R, Schoch C, Smyth C, Walker M, Geiser M. 2016. Sequence-based classification and identification of Fungi. *Mycologia*, 108(6), 1049-1068. <https://doi.org/10.3852/16-130>

Hidayat D, Luthfiyanti R, Iwansyah C, Herminiati A, Rahman T, Rahman N, Andriansyah E. 2021. Identification and evaluation of physical and mechanical properties of *Physalis peruviana* L. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 672(1), 012056. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/672/1/012056>

Hongos . (s/f). [Catalogueoflife.org](https://www.catalogueoflife.org). Recuperado el 6 de marzo de 2024, de <https://www.catalogueoflife.org/data/taxon/F>

Irinyi L, Hu Y, Hoang V, Pasic L, Halliday C, Jayawardena M, Basu I, McKinney W, Morris J, Rathjen J, Stone E, Chen S, Sorrell C, Schwessinger B, Meyer W. 2020. Long-read sequencing based clinical metagenomics for the detection and confirmation of *Pneumocystis jirovecii* directly from clinical specimens: A paradigm shift in mycological diagnostics. *Medical Mycology*, 58(5), 650-660. <https://doi.org/10.1093/mmy/myz109>

Goallec A, Tierney T, Lubber M, Cofer M, Kostic D, Patel J. 2020. A systematic machine learning and data type comparison yields metagenomic predictors of infant age, sex, breastfeeding, antibiotic usage, country of origin, and delivery type. *PLoS Computational Biology*, 16(5), e1007895. <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1007895>

Luo X, Xie C, Dong J, Yang X, Sui A. 2014. Interactions between *Verticillium dahliae* and its host: Vegetative growth, pathogenicity, plant immunity. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 98(16), 6921-6932. <https://doi.org/10.1007/s00253-014-5863-8>

Lutz M, Piątek M. 2016. Phylogenetic placement, DNA barcoding, morphology and evidence for the spreading of *Entyloma cosmi*, a species attacking *Cosmos bipinnatus* in temperate climate gardens. *European Journal of Plant Pathology*, 145(4), 857-869. <https://doi.org/10.1007/s10658-016-0874-1>

Marshall H. 1997. II. On the structure and life-history of *Entyloma Ranunculi* (bonorden). *Proceedings of the Royal Society of London*, 41(246-250), 318-318. <https://doi.org/10.1098/rspl.1886.0098>

Martínez D. 2019. Secuenciación metagenómica y nuevos procedimientos bioinformáticos para entender la evolución de hongos liquenizados. <https://www.semanticscholar.org/paper/Secuenciaci%C3%B3n-metagen%C3%B3mica-y-nuevos-procedimientos-Mart%C3%ADnez/3f9c358e6fff3ed32d8064fa2df066c872ec67ac>

Miranda D, Carranza C, Fischer G. 2016. Problemas de campo asociados al cultivo de uchuva. Universidad Nacional de Colombia.

Moncayo C. 2020. Resistencia genética al carbón blanco (*entyloma australe* sp.) en tomate de cáscara (*physalis* spp.). <http://repositorio.chapingo.edu.mx:8080/handle/20.500.12098/906>

Montiel M, Chávez V, González J. 2020. Asociación hongos del suelo con nemátodos fitoparásitos en el patosistema ñame, municipio Camajuaní. <https://www.semanticscholar.org/paper/Asociaci%C3%B3n-hongos-del-suelo-con-nem%C3%A1todos-en-el-Montiel-Ch%C3%A1vez/0b28f0f04371c3b37541e3fb47cc3628c84f0412>

Moreno-Miranda C, Moreno-Miranda R, Pilamala-Rosales A, Molina-Sánchez J, Cerda-Mejía L. 2019. sector hortofrutícola de Ecuador: Principales características socio-productivas de la red agroalimentaria de la uvilla (*Physalis peruviana*). *Ciencia y Agricultura*, 16(1), 31-51. <https://doi.org/10.19053/01228420.v16.n1.2019.8809>

Oliveira S, Gonçalves F, Correia, P, Guiné, R. 2016. Physical properties of *Physalis peruviana* L. *Open Agriculture*, 1(1), 55-59. <https://doi.org/10.1515/opag-2016-0007>

Paredes M, Yáñez J, Marcial M. 2021. Identificación de *Cercospora* spp. Como agente causal de mancha foliar en cultivos de uvilla (*Physalis peruviana* L.) en la Sierra norte del Ecuador. *Revista Ecuatoriana de Medicina y Ciencias Biológicas*, 42(2). <https://doi.org/10.26807/remcb.v42i2.899>
Pires V, Rivas R, García-Fraile P. 2019. Análisis metagenómico de la evolución de las comunidades microbianas en alimentos sometidos a refrigeración y en condiciones de ausencia de frío. *FarmaJournal*, 4(2), 73-84. <https://doi.org/10.14201/fj2019427384>

Poggi H, Guzmán D, García C, Lagos M. 2009. PCR universal o de amplio espectro: Un aporte a la detección e identificación de bacterias y hongos en la práctica clínica. *Revista médica de Chile*, 137(8), 1122-1125. <https://doi.org/10.4067/S0034-98872009000800020>

Puente L, Pinto-Muñoz C, Castro E, Cortés M. 2011. *Physalis peruviana* Linnaeus, the multiple properties of a highly functional fruit: A review. *Food Research International*, 44(7), 1733-1740. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2010.09.034>

Vista de Plagas asociadas al cultivo de aguaymanto (*Physalis peruviana*) en el distrito de Chinchao, Huánuco 2018. (s/f). Edu.pe. Recuperado el 19 de febrero de 2024, de <https://revistas.unheval.edu.pe/index.php/reina/article/view/1950/1817>

Rivera-Urbalejo A, Vázquez D, Vázquez J, Enríquez M, Cesa-Luna C, Morales-García, Rojas J, Hernández V. 2021. APORTES Y DIFICULTADES DE LA METAGENÓMICA DE SUELOS Y SU IMPACTO EN LA AGRICULTURA. *Acta Biológica Colombiana*, 26(3), Article 3. <https://doi.org/10.15446/abc.v26n3.85760>

Rodríguez D, Luna L, Campo J, Guerrero G, Meneses D, Ramos H, Rincón L. 2021. Tipología de productores de uchuva en el departamento de Nariño, Colombia. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 12(7), 1313-1318. <https://doi.org/10.29312/remexca.v12i7.2766>

Rodríguez-Tudela J, Cuesta, I, Gómez-López A, Alastruey-Izquierdo A, Bernal-Martínez L, Cuenca-Estrella M. 2008. Pruebas moleculares en el diagnóstico micológico. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 26, 47-53. <https://doi.org/10.1157/13128780>

Ruilova M, Tigre R, López M, Yanchaliquín A, Morejón I, Salguero H. 2017. Antibacterial Effects of *Uvilla* (*Physalis peruviana* L.) extracts against *Listeria* spp. Isolated from Meat in Ecuador. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 6(4), 1146-1153. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2017.604.141>

Sánchez M, Colmenárez Y, Manobanda M, Vásquez C. 2021. Variación quetotóxica en poblaciones de *Tetranychus urticae* Koch, 1836 y *Eotetranychus lewisi* (Mc Gregor, 1943) (Acari: Tetranychidae) de diferentes cultivos y localidades en la Provincia de Tungurahua, Ecuador. *REVISTA CHILENA DE ENTOMOLOGÍA*, 47(1), 19-33. <https://doi.org/10.35249/rche.47.1.21.03>

Savchenko K, Carris L, Castlebury L, Heluta, V, Wasser S, Nevo E. 2014. Revision of *Entyloma* (*Entylomatales*, *Exobasidiomycetes*) on *Eryngium*. *Mycologia*, 106(4), 797-810. <https://doi.org/10.3852/13-317>

Silva L. 2021. Importância da Metagenômica para o avanço da Biotecnologia. *Revista Multidisciplinar de Educação e Meio Ambiente*, 2(1), Article 1. <https://doi.org/10.51189/rema/1100>

Stefanini I, Cavalieri D. 2018. Metagenomic Approaches to Investigate the Contribution of the Vineyard Environment to the Quality of Wine Fermentation: Potentials and Difficulties. *Frontiers in Microbiology*, 9, 991. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00991>

Valdés L, Bispo P, Sobrin L. 2020. Application of Metagenomic Sequencing in the Diagnosis of Infectious Uveitis. *Seminars in Ophthalmology*, 35(5-6), 276-279. <https://doi.org/10.1080/08820538.2020.1818795>

Vanky K, Lutz M. 2010. *Entyloma majewskii* sp. Nov. (*Entylomataceae*) on *Ranunculus ficaria* from Iran. *Polish Botanical Journal*, 55, 271-279.

Walter H, Muggia L, Fritscher M, Holler A, Horvat D, Guttenberger H, Simon K. 2016. Multiple taxa in the Phoma -complex associate with black elder (*Sambucus nigra* L.). *Fungal Biology*, 120(1), 43–50. <https://doi.org/10.1016/j.funbio.2015.09.012>

Yu X, Zhou J, Song W, Xu M, He Q, Peng Y, Tian Y, Wang C, Shu L, Wang S, Yan Q, Liu J, Tu Q, He Z. 2021. SCycDB: A curated functional gene database for metagenomic profiling of sulphur cycling pathways. *Molecular Ecology Resources*, 21(3), 924-940. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.13306>

Yunga M, Arévalo M. 2017. Metagenómica de las comunidades microbianas en suelos hortoflorícolas bajo sistemas de manejo orgánico y convencional. <https://www.semanticscholar.org/paper/Metagen%C3%B3mica-de-las-comunidades-microbianas-en-bajo-Yunga-Ar%C3%A9valo/a7df67c842942f22de64289bcb05beefbd3de0b0>

Zhonghua W, Zhong B, Ji Jiu Yi X. 2023. Hunan Provincial Resuscitation Quality Control Center. 2023. Guidelines for quality control and management of death cases in medical institutions. 35(10), 1026-1032. <https://doi.org/10.3760/cma.j.cn121430-20230711-00502>



Figura 1: Plantación de uvilla (coordenadas 0°09'51.1"N 78°24'52.8"W). San José de Minas, Pichincha, Ecuador.

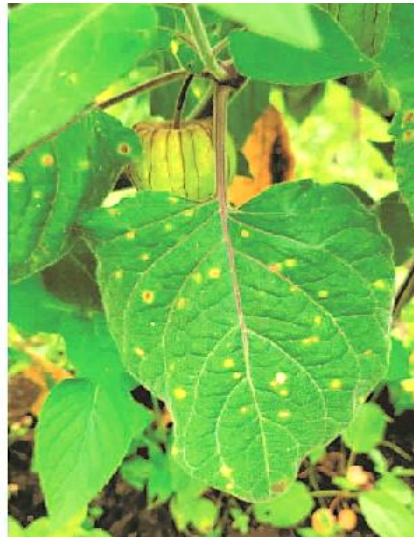


Figura 2: Hojas de uvilla con manchas típicas de carbón blanco. San José de Minas.

Tabla 1. Estadísticas de las clasificaciones taxonómicas

Nivel taxonómico	Lecturas clasificadas a nivel taxonómico	% Total de lecturas clasificadas a nivel taxonómico
Reino	40,701	99,85%
Filo	40,673	99,78%
Clase	40,523	99,42%
Orden	40,441	99,21%
Familia	40,143	98,48%
Género	39,125	95,99%
Especie	35,094	86,10%

Tabla 2. Lecturas secuenciadas de Fungi

Clasificación	Número de lecturas	% Total de lecturas
Fungi	40661	99,75%
Sin clasificar a nivel del reino ¹	60	0,15%
Plantae ²	40	0,10%

¹ En este contexto de los resultados de clasificación taxonómica se refiere a secuencias de ADN que han sido secuenciadas, pero no pudieron ser asignadas a ningún reino conocido en las bases de datos taxonómicas usadas en el estudio. Lo cual podría haberse debido a múltiples tales como: diversidad no catalogada previamente, calidad de la secuencia u otro tipo de limitaciones de la base de datos.

² "Plantae" se refiere al reino que incluye todas las plantas conocidas. En este contexto de la secuenciación de ADN y la clasificación taxonómica, las secuencias que han sido clasificadas bajo "Plantae" indican que pertenecen a organismos que son identificados como plantas según la información genética comparada con bases de datos taxonómicas. El hecho de que algunas lecturas se hayan clasificado como "Plantae" significa que un pequeño porcentaje del ADN secuenciado coincide con el de las plantas.

Tabla 3. Principales especies del reino Fungi de acuerdo al índice de abundancia

Filo	Clase	Orden	Familia	Género	Especie	Número de lecturas	% lecturas
Basidiomycota	<i>Tremellomyces</i>	<i>Tremellales</i>	<i>Bulleribasidiaceae</i>	<i>Vishniacozyma</i>	<i>Vishniacozyma carnescens</i>	5285	12,966
Basidiomycota	<i>Exobasidiomycetes</i>	<i>Entylomatales</i>	<i>Entylomataceae</i>	<i>Entyloma</i>	<i>Entyloma cosmi</i>	4990	12,242
Ascomycota	<i>Dothideomyces</i>	<i>Pleosporales</i>	<i>Didymellaceae</i>	<i>Boeremia</i>	<i>Boeremia sambuci nigrae</i>	4854	11,908
Basidiomycota	<i>Tremellomyces</i>	<i>Cystofilobasidiales</i>	<i>Cystofilobasidiaceae</i>	<i>Cystofilobasidium</i>	<i>Cystofilobasidium macerans</i>	4305	10,562
Ascomycota	<i>Dothideomyces</i>	<i>Capnodiales</i>	<i>Cladosporiaceae</i>	<i>Cladosporium</i>		2675	6,563
Ascomycota	<i>Dothideomyces</i>	<i>Capnodiales</i>	<i>Mycosphaerellaceae</i>	<i>Cercospora</i>	<i>Cercospora delaireae</i>	2172	5,329
Basidiomycota	<i>Tremellomyces</i>	<i>Tremellales</i>	<i>Bulleribasidiaceae</i>	<i>Vishniacozyma</i>	<i>Vishniacozyma victoriae</i>	1709	4,193
Basidiomycota	<i>Tremellomyces</i>	<i>Tremellales</i>	<i>Bulleribasidiaceae</i>	<i>Hannaella</i>	<i>Hannaella oryzae</i>	1519	3,727
Basidiomycota	<i>Microbotryomycetes</i>	<i>Microbotryomycetes_orden_Incertae_sedis</i>	<i>Chrysozymaceae</i>	<i>Sampaiozyma</i>	<i>Sampaiozyma ingeniosa</i>	1020	2,502
Basidiomycota	<i>Tremellomyces</i>	<i>Tremellales</i>	<i>Bulleraceae</i>	<i>Bullera</i>	<i>Bullera alba</i>	623	1,528
Ascomycota	<i>Dothideomyces</i>	<i>Pleosporales</i>	<i>Phaeosphaeriaceae</i>	<i>Paraphoma</i>	<i>Paraphoma chrysanthemicola</i>	563	1,381
Ascomycota	<i>Dothideomyces</i>	<i>Pleosporales</i>	<i>Didymellaceae</i>	<i>Boeremia</i>	<i>Boeremia exigua</i>	451	1,106
Basidiomycota	<i>Tremellomyces</i>	<i>Filobasidiales</i>	<i>Filobasidiaceae</i>	<i>Filobasidium</i>	<i>Filobasidium stepposum</i>	430	1,055
Ascomycota	<i>Dothideomyces</i>	<i>Pleosporales</i>	<i>Didymellaceae</i>			423	1,038
Basidiomycota	<i>Microbotryomycetes</i>	<i>Microbotryomycetes</i>	<i>Chrysozymaceae</i>	<i>Sampaiozyma</i>		393	0,964
Ascomycota	<i>Leotiomyces</i>	<i>Helotiales</i>	<i>Helotiaceae</i>	<i>Articulospora</i>	<i>Articulospora proliferata</i>	356	0,873

Ascomycota	<i>Sordariomycetes</i>	<i>Hypocreales</i>	<i>Nectriaceae</i>	<i>Gibberella</i>	<i>Gibberella tricinata</i>	339	0,832
Ascomycota	<i>Dothideomycetes</i>	<i>Capnodiales</i>	<i>Mycosphaerellaceae</i>			295	0,724
Ascomycota	<i>Dothideomycetes</i>	<i>Pleosporales</i>	<i>Didymellaceae</i>	<i>Ascochyta</i>	<i>Ascochyta herbicola</i>	259	0,635