

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL
DE HUAMANGA**

FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS

ESCUELA PROFESIONAL DE AGRONOMÍA



TESIS:

**Etiología e identificación molecular del agente causal de la
antracnosis en anona (*Rollinia mucosa* (Jacq) Baill),
Ayacucho - 2025.**

Para optar el título profesional de:
INGENIERA AGRÓNOMA

PRESENTADO POR:
Bach. Yen Elida NOLASCO SULCA

ASESORA:
M.Sc. Angela Juana REQUIS QUINTANILLA

AYACUCHO - PERÚ

2025

DEDICATORIA

A mi amada madre Elizabeth, por su inmenso amor, por sus sabios consejos y por ser mi mayor motivación. Gracias por cada esfuerzo y sacrificio que realizaste para que hoy pudiera culminar mis estudios. Este logro es tan tuyo como mío.

A mi padrino Ricardo, por su apoyo incondicional a lo largo de mi vida y, especialmente, durante mi etapa universitaria. Tu presencia y respaldo han sido fundamentales en este camino.

A mi familia, por cada palabra de aliento, por cada gesto y por cada pequeño aporte que, sumados, hicieron posible mi formación profesional. Gracias por su motivación constante y por creer siempre en mí.

AGRADECIMIENTO

A la **Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga (UNSCH)**, por haberme acogido en sus aulas y ofrecerme las herramientas necesarias para mi formación y desarrollo profesional. Asimismo, a los docentes de la Facultad de Ciencias Agrarias (FCA), por las enseñanzas y experiencias compartidas durante mi vida universitaria.

Al **M.Sc. Angela Requis Quintanilla**, asesora de la presente investigación, por su paciencia, orientación y apoyo constante, así como por impulsar esta investigación y acompañarme hasta su culminación.

A mis compañeros del laboratorio de Fitopatología Agrícola, por su apoyo, disposición y colaboración durante el desarrollo de la fase experimental de esta investigación.

ÍNDICE GENERAL

Dedicatoria.....	ii
Agradecimiento.....	iii
Índice general.....	iv
Índice de tablas	vi
Índice de figuras	vii
Índice de anexos	x
Resumen	11
Introducción	12
CAPÍTULO I	15
MARCO TEORICO	15
1.1 Antecedentes	15
1.2 Anona (<i>Rollinia mucosa</i>)	18
1.2.1 Origen y distribución	18
1.2.2 Taxonomía	18
1.2.3 Descripción botánica.....	18
1.2.4 Requerimientos edafoclimaticos.....	19
1.2.5 Producción y Cosecha.....	20
1.2.6 Enfermedades del cultivo.....	20
1.2.7 importancia de los frutales nativos amazónicos.....	21
1.2.8 Importancia del cultivo de la anona	21
1.3 Colletotrichum spp.....	24
1.3.1 Colletotrichum reportadas en la familia de las annonaceae.....	26
1.4 Identificación morfológica.....	29
1.5 Identificación molecular	29
1.5.1 Extracción de ADN.....	29

1.5.2 Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)	30
1.5.3 Primers	31
Capítulo II	33
Metodología	33
2.1 Ubicación	33
2.1.1 Fase campo	33
2.1.2 Fase laboratorio	34
2.2 Métodos	34
2.2.1 Colección y aislamiento de Colletotrichum	34
2.2.2 Caracterización morfológica	35
2.2.3 Caracterización molecular	35
2.2.4 Prueba de patogenicidad	39
Capítulo III	40
Resultados y discusión	40
3.1 Aislamiento del agente causal de la antracnosis en anona	40
3.2 Identificación de las características morfológicas del género	41
3.3 Identificación molecular del género y especie	78
3.4 Prueba de patogenicidad	82
Conclusiones	87
Recomendaciones	88
Referencias bibliográficas	89
Anexos	94

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.1 <i>Taxonomía de la anona</i>	18
Tabla 1.2 <i>Taxonomía de Colletotrichum</i>	24
Tabla 2.1 <i>Preparación de mezcla maestra para amplificación</i>	37
Tabla 3.1 <i>Características cuantitativos y cualitativos de los aislados</i>	77
Tabla 3.2 <i>Caracterización del estado teleomorfo de los aislamientos del grupo IV...</i>	77
Tabla 3.3 <i>Tabla de alineaciones significantes de la muestra M1</i>	81
Tabla 3.4 <i>Tabla de alineaciones significantes de la muestra M14</i>	81
Tabla 3.5 <i>Tabla de alineaciones significantes de la muestra M18</i>	81
Tabla 3.6 <i>Incidencia de antracnosis en frutos verdes y maduros de anona inoculados con diferentes aislamientos de Colletotrichum</i>	86

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 2.1 <i>Mapa de ubicación del área de estudio, donde se colectaron las muestras</i>	33
Figura 3.1 <i>Síntomas y esporulación del patógeno en frutos de anona</i>	41
Figura 3.2 <i>Características macroscópicas y microscópicas del aislamiento M1</i>	43
Figura 3.3 <i>Conidias del aislamiento M1</i>	43
Figura 3.4 <i>Características macroscópicas y microscópicas del aislamiento M2</i>	44
Figura 3.5 <i>Conidias del aislamiento M2</i>	44
Figura 3.6 <i>Características macroscópicas y microscópicas del aislamiento M3</i>	45
Figura 3.7 <i>Conidias del aislamiento M3</i>	45
Figura 3.8 <i>Características macroscópicas y microscópicas del aislamiento M23</i>	46
Figura 3.9 <i>Conidias del aislamiento M23</i>	46
Figura 3.10 <i>Características macroscópicas y microscópicas del aislamiento M24</i>	47
Figura 3.11 <i>Conidias del aislamiento M24</i>	47
Figura 3.12 <i>Características macroscópicas y microscópicas del aislamiento M25</i>	48
Figura 3.13 <i>Conidias del aislamiento M25</i>	48
Figura 3.14 <i>Características macroscópicas y microscópicas del aislamiento M4</i>	50
Figura 3.15 <i>Conidias del aislamiento M4</i>	50
Figura 3.16 <i>Características macroscópicas y microscópicas del aislamiento M5</i>	51
Figura 3.17 <i>Conidias del aislamiento M5</i>	51
Figura 3.18 <i>Características macroscópicas y microscópicas del aislamiento M6</i>	52
Figura 3.19 <i>Conidias del aislamiento M6</i>	52
Figura 3.20 <i>Características macroscópicas y microscópicas del aislamiento M7</i>	53
Figura 3.21 <i>Conidias del aislamiento M7</i>	53
Figura 3.22 <i>Características macroscópicas y microscópicas del aislamiento M8</i>	54
Figura 3.23 <i>Conidias del aislamiento M8</i>	54

Figura 3.24	<i>Características macroscópicas y microscópicas del aislamiento M9.....</i>	55
Figura 3.25	<i>Conidias del aislamiento M9.....</i>	55
Figura 3.26	<i>Características macroscópicas y microscópicas del aislamiento M10....</i>	56
Figura 3.27	<i>Conidias del aislamiento M10.....</i>	56
Figura 3.28	<i>Características macroscópicas y microscópicas del aislamiento M11....</i>	58
Figura 3.29	<i>Conidias del aislamiento M11.....</i>	58
Figura 3.30	<i>Características macroscópicas y microscópicas del aislamiento M12....</i>	59
Figura 3.31	<i>Conidias del aislamiento M12.....</i>	59
Figura 3.32	<i>Características macroscópicas y microscópicas del aislamiento M13....</i>	60
Figura 3.33	<i>Conidias del aislamiento M13.....</i>	60
Figura 3.34	<i>Características macroscópicas y microscópicas del aislamiento M17....</i>	61
Figura 3.35	<i>Conidias del aislamiento M17.....</i>	61
Figura 3.36	<i>Características macroscópicas y microscópicas del aislamiento M18....</i>	62
Figura 3.37	<i>Conidias del aislamiento M18.....</i>	62
Figura 3.38	<i>Características macroscópicas y microscópicas del aislamiento M19....</i>	63
Figura 3.39	<i>Conidias del aislamiento M19.....</i>	63
Figura 3.40	<i>Características macroscópicas y microscópicas del aislamiento M14....</i>	65
Figura 3.41	<i>Conidias del aislamiento M14.....</i>	66
Figura 3.42	<i>Estructuras sexuales del aislamiento M14.....</i>	66
Figura 3.43	<i>Características macroscópicas y microscópicas del aislamiento M15....</i>	67
Figura 3.44	<i>Conidias del aislamiento M15.....</i>	68
Figura 3.45	<i>Estructuras sexuales del aislamiento M15.....</i>	68
Figura 3.46	<i>Características macroscópicas y microscópicas del aislamiento M16....</i>	69
Figura 3.47	<i>Conidias del aislamiento M16.....</i>	70
Figura 3.48	<i>Estructuras sexuales del aislamiento M16.....</i>	70
Figura 3.49	<i>Características macroscópicas y microscópicas del aislamiento M20....</i>	71
Figura 3.50	<i>Conidias del aislamiento M20.....</i>	72

Figura 3.51 <i>Estructuras sexuales del aislamiento M20</i>	72
Figura 3.52 <i>Características macroscópicas y microscópicas del aislamiento M21</i>	73
Figura 3.53 <i>Conidias del aislamiento M21</i>	74
Figura 3.54 <i>Estructuras sexuales del aislamiento M21</i>	74
Figura 3.55 <i>Características macroscópicas y microscópicas del aislamiento M22</i>	75
Figura 3.56 <i>Conidias del aislamiento M22</i>	76
Figura 3.57 <i>Estructuras sexuales del aislamiento M22</i>	76
Figura 3.58 <i>Electroforesis en gel de agarosa al 1,5 % de productos amplificados por PCR del gen ITS en aislamientos de Colletotrichum (M1, M14 y M18)</i>	78
Figura 3.59 <i>Secuencia de consenso del aislamiento M1</i>	79
Figura 3.60 <i>Secuencia de consenso del aislamiento M14</i>	79
Figura 3.61 <i>Secuencia de consenso del aislamiento M18</i>	79
Figura 3.62 <i>Presencia de esporulación de tono salmón y naranja en los puntos de infección de frutos de anona</i>	83
Figura 3.63 <i>Lesiones necróticas circulares en los puntos de infección de frutos verdes de anona</i>	84
Figura 3.64 <i>Lesiones necróticas circulares en los puntos de infección de frutos maduros de anona</i>	85
Figura 3.65 <i>Frutos testigo verdes y maduros asintomáticos</i>	86

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. <i>Colección de muestras con síntomas de antracnosis en campo.</i>	94
Anexo 2. <i>Aislamiento e identificación del patógeno.</i>	95
Anexo 3. <i>Prueba de patogenicidad en frutos verdes.</i>	96
Anexo 4. <i>Prueba de patogenicidad en frutos maduros.</i>	97
Anexo 5. <i>Identificación molecular realizada en el Laboratorio Umbrella.</i>	98
Anexo 6. <i>Dimensiones de los conidios de los aislamientos M1, M2, M3, M4 y M5.</i> ...	99
Anexo 7. <i>Dimensiones de los conidios de los aislamientos M6, M7, M8, M9 y M10.</i>	100
Anexo 8. <i>Dimensiones de los conidios de los aislamientos M11, M12, M13, M14 y M15.</i>	101
Anexo 9. <i>Dimensiones de los conidios de los aislamientos M16, M17, M18, M19 y M20.</i>	102
Anexo 10. <i>Dimensiones de los conidios de los aislamientos M21, M22, M23, M24 y M25.</i>	103
Anexo 11. <i>Dimensiones de las estructuras sexuales de los aislamientos M14 y M15.</i>	104
Anexo 12. <i>Dimensiones de las estructuras sexuales de los aislamientos M16 y M20.</i>	105
Anexo 13. <i>Dimensiones de las estructuras sexuales de los aislamientos M21 y M22.</i>	106

RESUMEN

La antracnosis es una enfermedad fúngica caracterizada por producir lesiones necróticas en los tejidos de las plantas. El género *Colletotrichum* es considerado un patógeno de importancia debido a su capacidad para infectar una amplia variedad de hospedantes. Aunque diversas especies de la familia Annonaceae son altamente susceptibles a esta enfermedad, existe poca información sobre las enfermedades que afectan a la anona (*Rollinia mucosa*). En este estudio se realizó la caracterización morfológica, molecular y la prueba de patogenicidad del agente causal de la antracnosis en anona. Para la caracterización morfológica se evaluaron variables microscópicas (largo, ancho y forma de los conidios) y macroscópicas (color de la colonia, tipo de micelio y tasa de crecimiento). La caracterización molecular se efectuó mediante PCR utilizando cebadores universales de ITS (ITS1 e ITS4). Se realizaron aislamientos a partir de 50 frutos recolectados en el distrito de Kimbiri, región Cusco, Perú, obteniéndose 25 aislamientos puros para su análisis posterior. Con base en las características morfológicas, moleculares y los resultados de la prueba de patogenicidad, se determinó que los patógenos responsables de la antracnosis en frutos de anona en Kimbiri corresponden al Género *Colletotrichum* y las especies identificadas mediante prueba molecular fueron: *Colletotrichum alienum* y *Colletotrichum aeshynomenes*.

Palabras clave: Antracnosis, *Rollinia mucosa*, *Colletotrichum alienum*, *Colletotrichum aeshynomenes*, caracterización molecular.

INTRODUCCIÓN

La anona (*Rollinia mucosa* (Jacq.) Baill.) pertenece a la familia Annonaceae y es considerada una especie nativa de América tropical, con presencia en la región amazónica. Se encuentra en varios países de la región, entre ellos Brasil, Colombia, Ecuador, Perú, Venezuela, Guayana, México y Argentina. En el Perú, su cultivo se concentra principalmente en las regiones de Loreto, San Martín, Ucayali, Amazonas, Huánuco y Cusco, donde se desarrolla bajo condiciones climáticas favorables de la selva alta y baja (Flores, 1997; Love & Paull, 2011).

La Amazonía peruana alberga una notable biodiversidad, en la que los frutales nativos destacan por ofrecer múltiples beneficios a las comunidades amazónicas (González, 2007). Se estima que más de 193 especies de frutales nativos son aprovechadas por la población rural, y de ellas, 76 se comercializan activamente en los mercados de Iquitos (Mejía, 2018).

Entre estos frutales, la anona adquiere especial relevancia por su versatilidad y valor en distintos ámbitos. Tradicionalmente, ha sido utilizada en la medicina popular, y en la actualidad, diversos estudios resaltan su potencial farmacológico, pues contiene compuestos bioactivos con propiedades de interés para el desarrollo de nuevos fármacos (Estrada, 2011; Oliveira, 2017; Vásquez & Fetta, 2023). Además, investigaciones recientes destacan que los productos derivados de la anona, como compotas, yogures y néctares, presentan valiosas propiedades nutraceuticas (Castelo, 2024; Granda, 2025; Padilla & Ríos, 2022).

Gracias a sus excelentes características sensoriales, la anona también ha ido ganando protagonismo en la gastronomía peruana (Borges, 2019; Gutsche et al., 2008). Este cultivo posee, además, múltiples usos que permiten un aprovechamiento integral de la planta.

La antracnosis es una enfermedad causada principalmente por hongos del género *Colletotrichum*, y se caracteriza por la producción de lesiones necróticas en los tejidos afectados (Velázquez et al., 2018). Este patógeno presenta una alta capacidad de infección, lo que le permite atacar una amplia variedad de hospedantes (Rojo et al., 2017). La enfermedad ha sido reportada a nivel mundial en numerosos cultivos, incluyendo frutas, hortalizas, cereales, plantas herbáceas, maderables y ornamentales (Udayanga et al., 2013). Por su alto impacto económico y relevancia científica, *Colletotrichum* ha sido clasificado entre los diez patógenos vegetales más importantes a nivel global (Dean et al., 2012).

Esta enfermedad se presenta en todos los países donde se cultivan anonáceas y afecta principalmente los tejidos jóvenes, incluyendo hojas, ramas, flores y frutos en diferentes etapas de desarrollo (Vilela & Pereira 2014). Diversas especies del género *Colletotrichum* se han reportado como agentes causales de antracnosis en distintos miembros de la familia *Annonaceae*. Entre ellas, *C. fragariae*, *C. gloeosporioides* y *C. orbiculare* fueron identificadas en frutos de chirimoya (*Annona cherimola*) (Villanueva et al., 2008); *C. siamense* en frutos de *Annona scleroderma* (Salinas et al., 2020); y *C. fructicola* en frutos de *Annona squamosa* (Fan et al., 2025), entre otras. Sin embargo, la información específica sobre las enfermedades que afectan a *Rollinia mucosa* es limitada. Según Xavier (2018), *Colletotrichum* es el agente causal de la antracnosis en hojas de *Rollinia*. Hasta el momento, no existen otros estudios que documenten la presencia de este patógeno en dicha especie.

La identificación integral de patógenos, basada en la caracterización morfológica y el análisis molecular, permite obtener resultados confiables para su diagnóstico, lo que a su vez contribuye al establecimiento de estrategias de control más eficaces (Rojo et al., 2017). Asimismo, una identificación precisa del organismo causal permite comprender mejor su comportamiento y acceder a la información científica y técnica disponible sobre la especie o grupo taxonómico. Este conocimiento resulta esencial para el desarrollo de tecnologías y planes de manejo orientados a reducir el impacto de la enfermedad (Saldarriaga et al., 2008).

A partir de lo expuesto en el presente trabajo de investigación, se establecen los siguientes objetivos:

Objetivo general

Identificar mediante características morfológicas y moleculares el agente causal de la antracnosis en anona (*Rollinia mucosa* (Jacq) Baill).

Objetivos específicos

1. Aislar el agente causal de la antracnosis en anona.
2. Identificar mediante características morfológicas el género del agente causal de antracnosis en anona.
3. Identificar mediante características moleculares el género y especie del agente causal de antracnosis en anona.
4. Realizar la prueba de patogenicidad.

CAPÍTULO I

MARCO TEORICO

1.1 Antecedentes

En México, Villanueva et al. (2008) realizaron una investigación para identificar las especies del género *Colletotrichum* responsables de diversos síntomas de enfermedad en frutos y hojas de chirimoya (*Annona cherimola*), utilizando para ello caracterización molecular (regiones ITS1 e ITS4), análisis morfológico y pruebas de patogenicidad. Para el estudio, se seleccionaron seis aislamientos obtenidos de frutos maduros, frutos inmaduros y hojas. Como resultado, se identificaron las especies *C. fragariae*, *C. gloeosporioides* y *C. orbiculare*, responsables de la antracnosis en frutos, mientras que *C. gloeosporioides* también fue identificado en hojas y asociado, además, a la pudrición del pedúnculo.

Álvarez y Tenesaca (2022) Efectuaron un estudio en Ecuador con la finalidad de identificar el organismo responsable de la antracnosis en chirimoya (*Annona cherimola*). Obtuvieron diez aislamientos de frutos y hojas afectados por la enfermedad, que presentaban lesiones necróticas típicas. Estos aislamientos fueron caracterizados morfológicamente, además de ser sometidos a análisis molecular utilizando las regiones ITS y CAL, y a pruebas de patogenicidad. Los resultados revelaron que las especies *Colletotrichum gloeosporioides* y *Colletotrichum acutatum* eran las responsables de la antracnosis en la chirimoya.

Cambero (2018), en su tesis de maestría, investigó a los microorganismos implicados en la pudrición de frutos de guanábana (*Annona muricata*) en México, además de analizar su control bajo condiciones in vitro. Para el estudio se emplearon frutos en diferentes grados de madurez fisiológica con manifestaciones de pudrición seca y blanda. El análisis permitió identificar cinco géneros de hongos relacionados con la pudrición seca y otros cinco vinculados con la pudrición blanda. Mediante pruebas de patogenicidad e identificación molecular (utilizando los primers ITS4 e ITS5), se determinó que *Colletotrichum gloeosporioides* y

Pestalotiopsis sp. provocaron las pudriciones secas; por su parte, *Lasiodiplodia pseudotheobromae* fue responsable de las pudriciones blandas.

El objetivo del estudio realizado por Salinas et al. (2020) fue determinar cuál especie de *Colletotrichum* ocasionaba las lesiones de antracnosis y la momificación en frutos de anón de leche (*Annona scleroderma*). Para ello, se analizaron 15 frutos afectados, empleando técnicas morfológicas y moleculares basadas en genes como ACTIN, GAPDH y β -tubulina, así como pruebas de patogenicidad. Los resultados indicaron que *Colletotrichum siamense* es la especie implicada en estos daños en México.

En China, Fan et al. (2025) realizaron un estudio con el propósito de identificar el patógeno causante de la antracnosis en frutos de anona (*Annona squamosa*). Para ello, recolectaron frutos que presentaban síntomas característicos, como manchas oscuras, grandes e irregulares. A partir de estas muestras, se obtuvieron 23 aislamientos, de los cuales se seleccionaron tres por ser los más representativos. La identificación de los aislamientos se llevó a cabo mediante análisis morfológicos y moleculares, utilizando los marcadores ITS (ITS1 e ITS4), GAPDH, ACT, TUB2, CHS-1 y ApMat, además de realizar un análisis filogenético y pruebas de patogenicidad. Los resultados confirmaron que *Colletotrichum fructicola* fue la especie responsable de la antracnosis en los frutos analizados.

En Brasil, Xavier (2018) llevó a cabo un estudio con el objetivo de caracterizar, tanto morfológica como molecularmente (utilizando los marcadores ITS1 e ITS4), especies de *Colletotrichum* asociadas a la antracnosis en la vegetación de la Mata Atlántica. A partir de diversas muestras de material vegetal, se obtuvieron 16 aislamientos. Entre las plantas analizadas se incluyeron hojas de anona (*Rollinia mucosa*), las cuales presentaban manchas necróticas de tamaño variable. Como resultado del análisis, se identificó a *Colletotrichum gloeosporioides* como el agente causal de la antracnosis en las hojas de *R. mucosa*.

Tras la revisión de la literatura, no se encontraron estudios en Perú que aborden la identificación morfológica y molecular de especies de *Colletotrichum* en cultivos de la familia Annonaceae. Los pocos trabajos existentes solo hacen referencia general a patógenos asociados a la antracnosis en algunos hospedantes de esta familia.

En la provincia de Chanchamayo, Apaza y Salazar (2019) señalaron que actualmente solo se cultivan algunos ecotipos de guanábana, específicamente los denominados negra, amarilla, blanca y colombiana. Esta situación representa una limitación importante, ya que dichos ecotipos presentan vulnerabilidad frente a la enfermedad de la antracnosis (*Colletotrichum gloeosporioides*). De acuerdo con la Municipalidad Distrital de Chanchamayo (2014, como se citó en Apaza y Salazar, 2019), esta enfermedad puede llegar a afectar hasta el 78 % de los cultivos del ecotipo negro, considerado uno de los más susceptibles. En respuesta a esta problemática, el presente estudio tuvo como objetivo caracterizar morfológicamente diversos ecotipos de guanábana presentes en el distrito de Perené, una zona reconocida por albergar una alta diversidad genética y poblaciones silvestres relacionadas con esta especie.

Hilario (2019) desarrolló una investigación con el propósito de evaluar la efectividad del control biológico contra la antracnosis en tres ecotipos de guanábana (blanca, negra y amarilla) bajo condiciones de vivero en el distrito de La Merced, provincia de Chanchamayo. Este estudio cobró importancia debido al notable incremento en la producción de guanábana en la selva central, impulsado por la creciente demanda tanto a nivel nacional como internacional. Asimismo, se destacó que los agricultores enfrentaban diversas problemáticas relacionadas con plagas y enfermedades, tanto en vivero como en campo definitivo, siendo la antracnosis, causada por *Colletotrichum gloeosporioides*, la más relevante.

Mercado y Ccoicca (2024) desarrollaron una investigación cuyo objetivo fue evaluar la influencia de microorganismos rizosféricos en la reducción de la antracnosis en cultivos de guanábana ubicadas en el distrito de San Ramón, provincia de Chanchamayo. Su propósito fue encontrar una alternativa al uso de agroquímicos, los cuales son aplicados de manera constante en estos cultivos para controlar la enfermedad causada por *Colletotrichum gloeosporioides* Penz, pero que generan residuos perjudiciales para la salud humana. Según el Ministerio de Agricultura y Riego (MINAGRI, 2017, como se citó en Mercado y Ccoicca, 2024), la antracnosis representaba el principal problema fitosanitario en el cultivo de guanábana en la provincia de Chanchamayo.

1.2 Anona (*Rollinia mucosa*)

1.2.1 Origen y distribución

Es considerada una especie nativa de América tropical, posiblemente de origen amazónico, se distribuye en Brasil, Colombia, Ecuador, Perú y Venezuela. En el Perú se produce en las regiones de Loreto, San Martín, Ucayali, Amazonas, Huánuco y Cusco (Flores, 1997).

Asimismo, se plantea que el cultivo podría haberse originado en el norte de Brasil, a orillas del río Amazonas, así como en Guayana, el sur de México, Perú y el norte de Argentina (Love & Paull, 2011).

1.2.2 Taxonomía

Tabla 1.1

Taxonomía de la anona

Reino	Plantae
Subreino	Tracheobionta
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Subclase	Magnoliidae
Orden	Magnoliales
Familia	Annonaceae
Género	<i>Rollinia</i>
Especie	<i>mucosa</i>

(Medina, 2017)

1.2.3 Descripción botánica

La familia Annonaceae está compuesta por aproximadamente 130 géneros y 2300 especies. Dentro de esta familia, el género *Rollinia* cuenta con alrededor de 65 especies. El árbol de la anona crece rápidamente y puede alcanzar alturas que varían entre 4 y 10 metros, llegando a un máximo de 15 metros. La planta tiene un ciclo de vida que oscila entre 8 y 12 años. Presenta un tronco recto, con un diámetro que varía entre 12 y 30 centímetros, y una corteza lisa de tono gris parduzco. Posee hojas simples, dispuestas de forma alterna, y sin estípulas, con dimensiones de 12 a 15 cm de largo y 5 a 7 cm de ancho, con nervaduras laterales paralelas. Durante las estaciones secas, el árbol experimenta una caída total de hojas, lo que facilita el manejo de plagas y enfermedades. Posteriormente, florece una vez al año,

generalmente desde diciembre hasta febrero. Las flores son solitarias y hermafroditas. La composición de la fruta es de 52% pulpa, 42% cáscara y 6% semillas. El fruto se presenta como una infrutescencia de formas diversas, que pueden ser esféricas, oblongas, globosas o cónicas, y medir aproximadamente entre 10 y 15 cm de largo. Su pericarpo es carnoso y está cubierto por múltiples protuberancias cónicas redondeadas que alcanzan hasta 1 cm de altura. Su color varía desde tonos verdosos hasta amarillentos según su estado de madurez. La pulpa, también conocida como mesocarpo, es comestible y muestra un color que va desde el blanco hasta un ligero tono amarillento. Tiene una textura fibrosa, mucilaginosa, suave, carnosa y jugosa, con un sabor dulce pero notablemente ácido; su contenido de azúcares alcanza niveles de 20.5 grados Brix, y su pH oscila entre 4.1 y 4.4. Los frutos exhiben una gran variedad en cuanto a peso, que puede oscilar entre 200 g y 5 kg. Además, contienen numerosas semillas de color marrón oscuro a negro, que miden aproximadamente 1 cm de largo y 0.5 cm de ancho (Álvarez et al., 2011; Flores, 1997; INIAM, 2020; Janick & Paull, 2008; Love & Paull, 2011; Quevedo & Montañez, 1994).

1.2.4 *Requerimientos edafoclimaticos*

Esta especie se desarrolla en suelos profundos y ricos en nutrientes, con buenas condiciones de drenaje, aunque no prospera en suelos inundados. Puede establecerse en suelos ultisoles y oxisoles, a temperaturas de 25.5 °C - 17.2 °C y a una altitud que varía desde el nivel del mar hasta 1000 msnm (Flores, 1997). El Instituto de Investigaciones Amazónicas (INIAM, 2020) indicó que la anona requiere suelos franco arenosos de buen drenaje, temperatura de 20 a 25 °C, humedad de 80 %, altitud 400 a 1000 msnm, minerales como NPK, acidez 5,5- 6,5.

Esta especie es característica de climas cálidos y se desarrolla óptimamente en suelos profundos, fértiles y bien drenados. No soporta el frío ni las sequías prolongadas. Sin embargo, puede adaptarse a suelos pobres y muy ácidos, siempre que reciba un riego adecuado (Janick & Paull, 2008; Love & Paull, 2011). El anón amazónico se destaca como una especie de gran relevancia, gracias a su rusticidad y capacidad productiva. Este árbol prospera en los bosques húmedos tropicales, a altitudes que oscilan entre los 0 y 1400 metros sobre el nivel del mar. Comparado con el guanábano, el anón amazónico presenta un crecimiento más vigoroso, siendo capaz de adaptarse a suelos ácidos o extremadamente ácidos, incluso en condiciones de baja fertilidad y con alta saturación de aluminio (Quevedo & Montañez, 1994).

1.2.5 Producción y Cosecha

La producción comienza alrededor del tercer o cuarto año y dura alrededor de 155 días, abarcando desde diciembre hasta junio. Con una densidad de siembra de 7×7 m, se puede alcanzar una producción de 6,4 toneladas por hectárea. Al cabo de 15 años, cada árbol puede producir hasta 150 frutos anualmente. El momento ideal para cosechar es cuando los frutos adquieren un color amarillo. La recolección manual se lleva a cabo con suma delicadeza para evitar magulladuras o rupturas en las protuberancias, con el fin de prevenir su deterioro (Flores, 1997).

La cosecha se lleva a cabo entre junio y agosto, alcanzando un rendimiento promedio de 1311 kg/ha (INIAM, 2020). Una vez recolectada, la fruta tiene una vida útil corta, que no supera la semana. Su maduración se completa entre los 5 y 8 días. Cuando la piel de la fruta adopta un color negro, la pulpa cambia su color y viscosidad, volviéndose mucosa y transparente, lo que da origen a su nombre botánico, *R. mucosa*. En esta fase, la fruta se puede consumir durante uno o dos días antes de que inicie el proceso de fermentación (Love & Paull, 2011).

1.2.6 Enfermedades del cultivo

Existe poca información específica sobre las enfermedades que afectan a la anona (*Rollinia mucosa*). Según Janick y Paull (2008), la *Cercospora* ocasiona manchas foliares, mientras que *Glomerella cingulata* ha sido asociada con la muerte regresiva de tallos y la pudrición de los frutos. Por su parte, Xavier (2018) reporta que *Colletotrichum gloeosporioides* es el agente causal de antracnosis en esta especie, caracterizada por la aparición de manchas necróticas en las hojas.

En un contexto más amplio, diversos estudios indican que las anonáceas en general son altamente susceptibles a la enfermedad de la antracnosis, la cual puede afectar múltiples estructuras vegetativas. Vilela y Pereira (2014) mencionan que *Colletotrichum gloeosporioides* se encuentra entre los principales patógenos de esta familia, causando pérdidas de entre el 53 % y el 70 % de frutos durante la temporada de lluvias, principalmente por la caída prematura de flores y frutos. Esta enfermedad se presenta en todos los países donde se cultivan anonáceas y afecta especialmente los tejidos jóvenes, incluyendo hojas, ramas, flores y frutos en diferentes

etapas de desarrollo. Se manifiesta a través de lesiones necróticas en órganos vegetativos y puede incluso momificar los frutos inmaduros.

1.2.7 importancia de los frutales nativos amazónicos

Los frutales nativos representan un recurso valioso por los múltiples beneficios que aportan a las sociedades amazónicas. Según Gonzáles (2007), la Amazonía peruana alberga una gran biodiversidad, donde estos frutales cumplen un rol esencial en la alimentación humana, la nutrición de fauna silvestre y domesticada, así como en el desarrollo de la industria agroalimentaria regional.

Por su parte, Gutsche et al. (2008) destacan que en los mercados de Iquitos se comercializan alrededor de 60 especies de frutales nativos, muchas de ellas provenientes de poblaciones silvestres y, por tanto, orgánicas. Esta cifra es reconocida a nivel mundial por la gran diversidad que representa en un solo punto de venta. Además, diversos estudios respaldan que estos productos amazónicos son altamente nutritivos y beneficiosos para la salud.

Mejía (2018) sostiene que la diversidad biológica de los productos agrícolas contribuye significativamente a la seguridad alimentaria, al ofrecer una amplia variedad de alimentos. Actualmente, se estima que más de 193 especies de frutales nativos son utilizadas por la población rural, de las cuales 76 especies pertenecientes a 21 familias botánicas se comercializan en los mercados de Iquitos.

A pesar de sus ventajas, estas especies enfrentan un desafío importante: su permanencia en el bosque dependerá del interés que generen en las comunidades locales para ser consumidas y aprovechadas (Gutsche et al., 2008).

1.2.8 Importancia del cultivo de la anona

a. medicinal

Tradicionalmente, los pueblos nativos han utilizado la anona como planta medicinal para tratar diversas afecciones parasitarias e infecciosas. La infusión de sus hojas y corteza es eficaz para aliviar síntomas como fiebre, calambres, diarrea y vómitos, mientras que la cáscara del fruto se emplea en tratamientos para blanqueamiento dental, cuidado facial y eliminación de verrugas. Actualmente, la anona también es valorada como un remedio natural para

enfermedades como el cáncer, la diabetes, úlceras, trastornos mentales, neumonía e infecciones parasitarias. Investigaciones indican que el fruto y las semillas contienen acetogeninas y alcaloides, compuestos con potenciales efectos antitumorales y anticancerígenos, especialmente en el tratamiento del cáncer de mama (INIAM, 2020; Janick & Paull, 2008; Vásquez & Fetta, 2023).

Las especies del género *Annona* producen acetogeninas y policétidos con efectos citotóxicos sobre células cancerosas. Además, generan alcaloides que afectan el sistema nervioso central, lo que las convierte en una fuente valiosa para el desarrollo de nuevos fármacos. Extractos de hexano de *Annona cherimola* y *Rollinia mucosa* muestran efectos ansiolíticos similares al diazepam. Asimismo, *Rollinia mucosa* contiene compuestos como palmitona y lignano, con propiedades ansiolíticas y sedantes prometedoras para nuevos medicamentos (Estrada, 2011).

El estudio realizado con extracto hidroetanólico al 70% de las hojas de *Rollinia mucosa* permitió identificar diversos compuestos bioactivos, como taninos, flavonoides, saponinas y alcaloides. Estos extractos y fracciones mostraron actividad antimicrobiana significativa contra bacterias como *Staphylococcus aureus*, el hongo *Candida albicans* y cepas clínicas de *Salmonella spp.*, siendo atribuida esta actividad principalmente a los alcaloides y flavonoides presentes (Oliveira, 2017).

El gel elaborado con extracto etanólico de hojas de *Rollinia mucosa* ha demostrado actividad antibacteriana frente a cepas patógenas para el ser humano, como *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Escherichia coli*. Las hojas de esta especie contienen diversos metabolitos, entre ellos flavonoides como orientina y rutina, además de alcaloides, sesquiterpenos y acetogeninas. En particular, los flavonoides son responsables de sus propiedades antimicrobianas y antioxidantes (Vásquez & Fetta, 2023).

b. nutraceutica

Diversas investigaciones destacan que los productos derivados de la anona poseen propiedades nutraceuticas valiosas. Padilla y Ríos (2022) señalan que la compota elaborada con *Rollinia mucosa* y *Oenocarpus bataua* es un alimento funcional con alta capacidad

antioxidante, apto para la exportación y adecuado para personas de todas las edades, según evaluaciones fisicoquímicas, microbiológicas y sensoriales.

Según Castelo (2024), el yogurt elaborado con leche de búfala, jalea de *Rollinia mucosa* y chía presenta buena textura y alto valor nutricional, superando al yogurt de la leche de vaca en contenido proteico. Es un producto viable y nutritivo, ideal para personas mayores, gracias a los aportes de la jalea de anona, rica en calcio, potasio y vitamina C.

Por su parte, Granda (2025) reportó que el néctar elaborado con pulpa de *Rollinia mucosa* endulzado con stevia presentó una buena aceptación organoléptica, con valores destacados en color, olor, textura y apariencia. Asimismo, se detectaron niveles significativos de compuestos bioactivos como polifenoles y flavonoides, junto con un perfil nutricional favorable que incluye vitamina C y minerales como calcio, potasio y magnesio.

c. gastronómico

La anona está adquiriendo un lugar prominente en la gastronomía peruana debido a su sabor exótico. Según Borges (2019), esta fruta se distingue por sus excelentes características sensoriales, como su color, aroma y sabor. Asimismo, Gutsche et al. (2008) destacan que las frutas amazónicas, incluida la anona, aportan nuevos sabores, texturas y aromas que enriquecen la reconocida cocina peruana. Un ejemplo de esta innovación culinaria es el sorbete de anona con manzanas en almíbar de hierbabuena, una receta vanguardista que se ofrece en los restaurantes del renombrado chef Gastón Acurio, tanto en Perú como en el extranjero.

d. usos múltiples y aprovechamiento integral

La anona es conocida como la fruta con sabor a caramelo o a pudín de limón y es apreciada por su alto contenido de vitamina C. Esto la convierte en una fruta popular tanto para el consumo fresco como para la elaboración de diversos productos, tales como helados, jaleas, mermeladas, golosinas, jugos, mousses, confituras, postres y bebidas gaseosas. En Brasil viene siendo valorada y utilizada para la producción de vino. Esta especie destaca por su versatilidad y la variedad de usos que se le pueden dar, lo que permite un aprovechamiento integral. La planta se utiliza para establecer cercos vivos, mientras que su madera, resistente y densa, es ideal para la construcción de barcos, viviendas, embarcaciones, herramientas, cajas y la elaboración de máscaras. Los frutos dañados son destinados a la alimentación animal, y la

cáscara se emplea como fertilizante natural, conservadora de carne, filtradora de agua, así como para la producción de celulosa y papel. Por último, las semillas se utilizan como insecticidas naturales, demostrando el gran potencial que ofrece esta planta en distintos ámbitos (Flores, 1997; INIAM, 2020; Janick & Paull, 2008; Love & Paull, 2011).

1.3 *Colletotrichum* spp.

Colletotrichum es un género de hongos fitopatógenos ampliamente distribuido geográficamente y conocido por ser el principal causante de la enfermedad denominada antracnosis, la cual afecta a una gran variedad de cultivos agrícolas (Velázquez et al., 2018).

a. taxonomía

Tabla 1.2

Taxonomía de Colletotrichum

Reino	Fungi
División	Ascomycota
Clase	Sordariomycetes
Subclase	Hypocreomycetidae
Orden	Glomerellales
Familia	Glomerellaceae
Género	<i>Colletotrichum</i>

(Réblová et al., 2011)

Colletotrichum corresponde a la fase asexual del hongo *Glomerella*. Debido a que el nombre del género cambia según su estado sexual o asexual, se considera un grupo con una clasificación taxonómica compleja y a menudo confusa (Damm et al., 2010; Réblová et al., 2011).

b. importancia

Las especies del género *Colletotrichum* son consideradas patógenos de importancia, ya que pueden infectar a una amplia variedad de hospedantes gracias a su alta capacidad de infección (Rojo et al., 2017). Este hongo puede causar pérdidas económicas significativas, ya que afecta tanto la calidad como la cantidad de la producción agrícola, desde la etapa de precosecha hasta la postcosecha. En condiciones climáticas favorables, las pérdidas pueden llegar hasta el 100 % en ciertos cultivos (Landeró et al., 2016). Por su alto impacto económico

y relevancia científica, *Colletotrichum* ha sido clasificado entre los diez patógenos vegetales más importantes a nivel mundial (Dean et al., 2012).

c. sintomatología

La enfermedad afecta principalmente hojas, pecíolos y tallos. En el caso del follaje, las lesiones de forma irregular pueden fusionarse hasta ocasionar la destrucción total del tejido. En los tallos se observa oscurecimiento y la muerte de los ápices, lo que puede provocar el deterioro progresivo de la planta. Cuando el ataque es severo, se produce una afectación general de los tejidos, favoreciendo la defoliación y la caída prematura de los frutos (Pérez et al., 2003; Tous, 2008).

De acuerdo con Agrios (2020), este patógeno puede atacar múltiples órganos de la planta, incluyendo tallos, hojas y frutos. Los síntomas característicos incluyen lesiones oscuras, manchas foliares, muerte descendente de las ramas, pudrición y caída de frutos.

d. factores climáticos

El desarrollo de la antracnosis está fuertemente condicionado por los factores ambientales. Entre ellos, la duración de la humedad en la superficie de las hojas facilita el proceso de infección y el desarrollo del hongo en los tejidos vegetales. Las precipitaciones continuas incrementan significativamente la incidencia de la enfermedad. Se ha reportado que temperaturas elevadas, alrededor de 27 °C, junto con una humedad relativa del 80 % durante la etapa de maduración del fruto, favorecen tanto la infección como la reproducción del patógeno (Cerón et al., 2006).

Asimismo, se ha señalado que las precipitaciones intensas durante la temporada invernal, en combinación con una alta humedad relativa, crean condiciones altamente propicias para la aparición de epidemias severas en un corto período de tiempo, afectando gravemente el crecimiento de la planta (Pérez et al., 2003).

Por su parte, Betancourt (2019) manifestó que las condiciones de alta humedad (90- 100 %) y una temperatura promedio de 29 °C, características de la estación lluviosa, favorecen el desarrollo y la dispersión de *Colletotrichum*; en consecuencia, el incremento de precipitaciones se relaciona con una mayor incidencia y severidad de la antracnosis.

1.3.1 *Colletotrichum* reportadas en la familia de las *annonaceae*

Colletotrichum gloeosporioides, reportado en hojas de *Rollinia mucosa*, produce manchas necróticas como síntoma característico de la infección. Para su aislamiento y cultivo, se utilizó medio PDA, incubado durante 10 días en condiciones de oscuridad a 25 °C. Bajo estas condiciones, el hongo desarrolló colonias de hasta 60 mm de diámetro, de color blanco a gris claro, con una textura algodonosa; el reverso de las colonias presentó una coloración crema con el centro oscuro. Los conidios producidos fueron hialinos, solitarios, cilíndricos, rectos, aseptados, con ápice y base obtusos, y con un tamaño de 12–15 × 3–5 µm (Xavier, 2018).

Según lo reportado por Villanueva et al. (2008), se identificaron las especies *Colletotrichum fragariae*, *C. gloeosporioides* y *C. orbiculare* en frutos de chirimoya, mientras que *C. gloeosporioides* también se detectó en hojas y pedúnculo. La antracnosis se manifestó con lesiones necróticas circulares o irregulares, con masas de conidios de tono salmón a naranja.

El aislamiento de los hongos se realizó en medio PDA, incubado a 25 ± 3 °C. A los 10 días, las colonias produjeron conidios hialinos, aseptados, cilíndricos y rectos, dispuestos en masas mucilaginosas de tonalidad salmón a naranja. Además, las tres especies desarrollaron micelio que al principio era blanco y que luego cambió a salmón, salmón-naranja-rosa y gris olivo.

En el caso de *C. gloeosporioides*, los conidios presentaron ambos extremos obtusos o ligeramente angostados, con tamaños variables. Para *C. fragariae* y *C. orbiculare*, los conidios mostraron un extremo obtuso y el otro angostado, con dimensiones que oscilaron entre 13.3 y 20 µm de longitud por 3.3 a 4.4 µm de ancho, y 11.1 a 14.4 µm de longitud por 4.0 a 4.7 µm de ancho, respectivamente.

Además, *C. gloeosporioides* produjo peritecios esféricos de color café oscuro, inmersos en el medio PDA. Estas estructuras generaron ascosporas hialinas, unicelulares, curvadas y fusiformes, observadas entre los 7 y 14 días de incubación. Las estructuras sexuales fueron identificadas como pertenecientes a *Glomerella cingulata*.

Colletotrichum gloeosporioides y *Colletotrichum acutatum*, aislados de frutos y hojas de chirimoya, provocaron lesiones necróticas características de antracnosis. Para su aislamiento y cultivo, se empleó medio PDA (Papa Dextrosa Agar), incubado durante 10 días a una

temperatura aproximada de 25 °C. Los aislamientos presentaron variaciones morfológicas notables, observándose tres tipos de coloración en las colonias: blanca, blanco-crema y gris oscuro. En cuanto al tipo de micelio, se identificaron formas ligeramente algodonosas, moderadamente algodonosas, abundantemente algodonosas y otras con desarrollo escaso. La morfología de los conidios también mostró variabilidad: algunos presentaban ambos extremos redondeados, otros tenían un extremo redondeado y el otro agudo, y algunos conidios exhibían ambos extremos agudos (Álvarez & Tenesaca, 2022).

Colletotrichum siamense fue identificado en frutos de *Annona scleroderma*, causando síntomas característicos de antracnosis y momificación del fruto. Para su aislamiento y cultivo, se utilizó medio PDA, incubándose las muestras durante 8 días en oscuridad a una temperatura de 28 °C. Las colonias presentaron una textura algodonosa y mostraron un cambio progresivo de color, desde blanco hasta salmón pálido y finalmente pardo. Los conidios observados fueron principalmente fusiformes, aunque algunos tenían forma oblonga, con tamaños que oscilaron entre 8 y 17 µm de longitud y de 3 a 4.5 µm de ancho (Salinas et al., 2020).

Colletotrichum fruticola fue aislado de frutos de *Annona squamosa* que presentaban manchas oscuras. Los aislamientos se incubaron en medio PDA a 28 °C. Las colonias inicialmente mostraron un color blanco, que posteriormente cambió a verde grisáceo, y durante su desarrollo formaron anillos concéntricos. Además, produjeron masas de conidios de tonalidad naranja claro. Los conidios maduros presentaron una forma cilíndrica y unicelular, con dimensiones que oscilaron entre 11.09 y 20.02 µm de longitud, y entre 4.06 y 6.54 µm de ancho (Fan et al., 2025).

A partir de muestras foliares de anón (*Annona squamosa*) y guanábano (*Annona muricata*) que presentaban síntomas característicos de antracnosis, se realizaron aislamientos de los tejidos afectados. Los cultivos se establecieron en medio de avena e incubaron a una temperatura aproximada de 25 °C, con un fotoperiodo de 12 horas de luz, durante 10 días. Posteriormente, se realizó la caracterización morfológica de los aislamientos obtenidos. *Colletotrichum gloeosporioides* presentó conidios cilíndricos, rectos y con ápices redondeados, con dimensiones promedio de 13.0 × 5.2 µm. *C. boninense* mostró conidios también cilíndricos y rectos, de extremos redondeados, con un tamaño promedio de 13.3 × 6.1 µm. En tanto, *C.*

fragariae produjo conidios cilíndricos y rectos, con extremos redondeados, presentando un lado más estrecho que el otro, con dimensiones promedio de $12.4 \times 5.1 \mu\text{m}$ (Kamei et al., 2014).

A partir de distintos tejidos de guanábana (hojas, ramas, frutos y flores) con síntomas de antracnosis, se obtuvieron aislamientos para su estudio. Estos se cultivaron en medio PDA y se incubaron a 21 °C bajo un fotoperiodo de 12 horas durante 10 días, para posteriormente evaluar sus características morfológicas.

Colletotrichum gloeosporioides s. str. presentó colonias de textura algodonosa, con un color que varió de blanco grisáceo a blanco. Sus conidios tenían forma cilíndrica, con dimensiones que oscilaron entre 12.5 y 13.75 μm de longitud, y de 3.12 a 3.75 μm de ancho.

Colletotrichum karstii mostró colonias que iban del blanco al salmón pálido, con conidios cilíndricos que midieron entre 13.0 y 15.0 μm de largo, y de 4.96 a 5.62 μm de ancho.

Las colonias de *Colletotrichum siamense* también fueron algodonosas, con colores de blanco grisáceo a blanco. Sus conidios, de forma cilíndrica con extremos obtusos a ligeramente redondeados, presentaron dimensiones entre 12.81 y 16.73 μm de longitud, y entre 4.69 y 6.25 μm de ancho.

En el caso de *Colletotrichum theobromicola*, las colonias mostraron una textura compacta y un color negro grisáceo. Los conidios fueron cilíndricos, a veces con un ligero estrechamiento hacia la base, y midieron entre 14.37 y 24.4 μm de largo, y entre 2.81 y 5.62 μm de ancho.

Finalmente, *Colletotrichum tropicale* presentó colonias algodonosas, con un color que fluctuó entre blanco grisáceo y blanco. Sus conidios cilíndricos tuvieron dimensiones de 11.25 a 12.51 μm de longitud y de 3.75 a 4.38 μm de ancho (Álvarez et al., 2014).

Se recolectaron hojas y frutos de atemoya, guanábana y chirimoya que presentaban manchas de color marrón oscuro. Para aislar los hongos, se utilizó el medio de cultivo PDA, incubándose las muestras a aproximadamente 25 °C bajo un fotoperiodo de 12 horas durante siete días. Posteriormente, se realizó la caracterización morfológica de los aislamientos.

Las colonias pertenecientes al complejo *Colletotrichum gloeosporioides* mostraron variabilidad en cuanto al color, que osciló entre gris, blanco grisáceo y blanco anaranjado en la zona central, presentando además una textura algodonosa. Se observó también una variación en la velocidad de crecimiento micelial, con un índice que fluctuó entre 0.8 y 1.4 mm por día. En cuanto a los conidios, estos fueron hialinos, no septados y de forma cilíndrica con extremos redondeados. La longitud promedio de los conidios varió entre 7.72 y 11.92 μm , en tanto que su ancho promedio estuvo entre 2.5 y 4.49 μm (Hernandez, 2024).

1.4 Identificación morfológica

Tradicionalmente, la identificación del género *Colletotrichum* se ha basado en características morfológicas tales como el tamaño y la forma de los conidios y apresorios, la presencia o ausencia de setas, esclerocios y acérvulos, así como en la observación del estado teleomorfo. Además, se consideran características culturales como el color y la textura de la colonia, junto con la tasa de crecimiento (Hyde et al., 2009).

Colletotrichum se caracteriza por la formación de acérvulos individuales con forma de disco, de apariencia cerosa y localizados en tejidos subepidermales que emergen del hospedante. Estos acérvulos suelen presentar espinas negras dispuestas en los márgenes o entre los conidióforos, aunque en determinadas condiciones de cultivo pueden encontrarse ausentes. Los conidióforos son estructuras simples y alargadas, mientras que los conidios son hialinos, unicelulares y con forma ovoide u oblonga (Barnett & Hunter, 1998).

1.5 Identificación molecular

1.5.1 Extracción de ADN

Las técnicas de biología molecular requieren el análisis de los ácidos nucleicos extraídos de los organismos para su identificación y detección. En este contexto, la extracción de ADN o ARN constituye el paso más importante en la caracterización molecular, ya que la muestra debe purificarse adecuadamente para evitar la presencia de inhibidores que interfieran con la correcta ejecución de las técnicas empleadas (Diz, 2020).

El procedimiento de extracción consiste en aislar y purificar las moléculas de ADN, en condiciones de pureza e integridad adecuadas. Para ello se aprovechan sus características fisicoquímicas. Los grupos fosfato de los nucleótidos, debido a su polaridad y carga negativa,

confieren al ADN su carga eléctrica negativa, característica que se aprovecha durante su extracción. A partir de estas propiedades se han desarrollado diferentes métodos, desde protocolos tradicionales con varias etapas como homogenización, lisis celular, eliminación de proteínas y lípidos, precipitación y posterior redisolución, hasta sistemas modernos basados en kits comerciales (Alejos et al., 2015).

La estructura del ADN explica muchas de estas propiedades: se trata de una doble hélice cuyos filamentos se mantienen unidos por puentes de hidrógeno: dos entre adenina y timina, y tres entre guanina y citosina, mientras que los nucleótidos se enlazan mediante enlaces fosfodiéster, que conectan el grupo fosfato (H_3PO_4) con el azúcar. La naturaleza hidrofílica y la carga negativa de estos grupos fosfato son fundamentales para las técnicas de extracción, ya que determinan cómo interactúa el ADN con los reactivos durante el proceso (Alejos et al., 2015).

1.5.2 Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)

La técnica de PCR se basa en la amplificación de una región específica del ADN mediante el uso de cebadores (Primers), que son secuencias de ADN de 15 a 30 nucleótidos complementarias a la región de interés. Este proceso requiere la acción del ADN polimerasa termoestable, encargada de incorporar los desoxinucleótidos durante la síntesis de nuevas cadenas de ADN. Para su ejecución, la mezcla de reacción se prepara en tubos Eppendorf con ADN molde, Primers, desoxinucleótidos, ADN polimerasa y su cofactor, y posteriormente se somete a ciclos de temperatura que permiten la amplificación del fragmento específico (Diz, 2020).

La PCR constituye una reacción enzimática capaz de multiplicar millones de veces una secuencia específica de ADN mediante ciclos repetitivos, durante los cuales la secuencia molde se copia fielmente. La reacción aprovecha la capacidad natural de la enzima ADN polimerasa para sintetizar ADN en las células. Los componentes esenciales incluyen el ADN molde, la enzima, los primers, los desoxirribonucleótidos trifosfatados (dNTPs: A, T, C, G), el ión magnesio, la solución buffer y agua libre de nucleasas (Tamay de Dios et al., 2013).

Con base en este principio, la reacción en cadena de la polimerasa se desarrolla mediante ciclos repetitivos, cada uno de los cuales está conformado por tres fases principales, las cuales se describen a continuación:

Desnaturalización. En esta etapa, las cadenas de ADN son calentadas y separadas a una temperatura de 95 °C durante 20-30 segundos; el tiempo depende de la secuencia del templado, es decir, si la cantidad de G-C es alta, será necesario más tiempo para romper sus uniones debido a que el apareamiento de estas bases está formado por tres enlaces, uno más que las bases de A-T. Al final de esta etapa tendremos las cadenas separadas que servirán como templado para el siguiente paso. (Tamay de Dios et al., 2013, p.72)

Hibridación. En esta etapa, los primers se alinean al extremo 3' del templado previamente separado e hibridan con su secuencia complementaria. Para que se forme el complejo templado-primers, es importante que la temperatura de hibridación sea la óptima; ésta generalmente oscila entre 50-60 °C. (Tamay de Dios et al., 2013, p.72)

Extensión. En este periodo la Taq polimerasa actúa sobre el complejo templado-primers y empieza su función catalítica a una velocidad muy rápida; agrega dNTP's complementarios para crear las cadenas completas de ADN. En esta etapa se sintetiza a una nueva cadena en la dirección 5' a 3' generalmente a temperatura óptima de 72°C debido a que la enzima es funcional a esa temperatura. (Tamay de Dios et al., 2013, p.73)

1.5.3 *Primers*

Los primers, también llamados cebadores o iniciadores, son secuencias cortas de ADN de cadena simple utilizadas en la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). En este método, se emplea un par de primers que se unen al ADN de la muestra para establecer la región que se va a amplificar (Vázquez et al., 2020). Asimismo, Tamay de Dios et al. (2013) señalaron que los primers son secuencias de oligonucleótidos que delimitan la región objetivo y son complementarias a la secuencia específica que se desea copiar.

La región espaciadora transcrita interna (ITS) del ADN ribosómico constituye uno de los marcadores moleculares más utilizados en estudios genéticos. En organismo eucariotas, el ADN ribosómico se organiza en repeticiones en tándem, cada una de las cuales incluye genes codificantes y regiones espaciadoras. En este arreglo, la unidad comienza con el espaciador transcrito externo (ETS), seguido por el gen del ARNr 18S, la región ITS1, el gen 5.8S, la región ITS2, el gen 28S y el espaciador intergénico (IGS) (Freire et al., 2010).

METODOLOGÍA

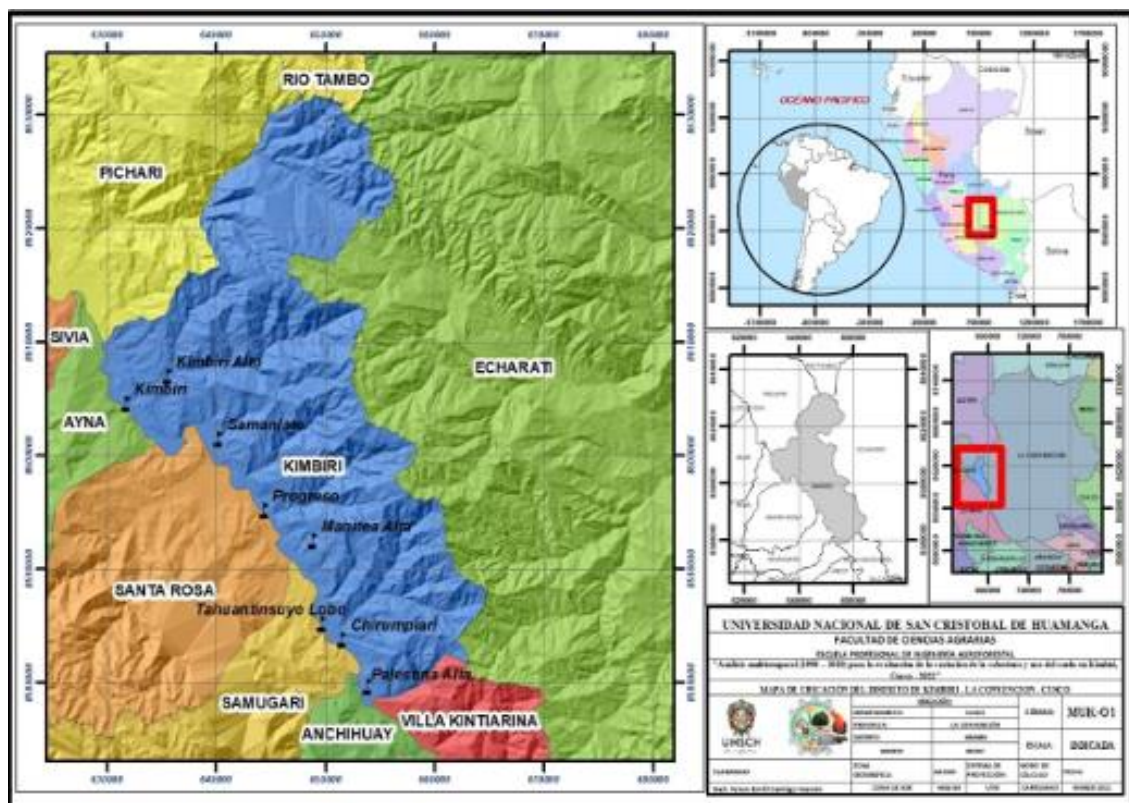
2.1 Ubicación

2.1.1 Fase campo

La colección de muestras se realizó en los campos de cultivo de anona, ubicados en el distrito de Kimbiri, provincia de La Convención, departamento del Cusco, en las coordenadas 12°37'13" de latitud sur y 73°47'18" de longitud oeste, a una altitud de 582 m s. n. m.

Figura 2.1

Mapa de ubicación del área de estudio, donde se colectaron las muestras



2.1.2 Fase laboratorio

El presente trabajo de investigación se llevó a cabo en el laboratorio de Fitopatología de la Escuela Profesional de Agronomía de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, ubicado en el distrito de Ayacucho, provincia de Huamanga, región Ayacucho, en las coordenadas 13°08'53" de latitud sur y 74°13'12" de longitud oeste, a una altitud de 2792 m s. n. m. En dicho laboratorio se realizaron los trabajos de aislamiento, identificación morfológica y prueba de patogenicidad. La identificación molecular se realizó en el laboratorio de la empresa Umbrella Genomics, ubicado en el distrito de Lince, provincia de Lima, región Lima.

2.2 Métodos

2.2.1 Colección y aislamiento de *Colletotrichum*

Las muestras fueron colectadas en áreas de cultivo de anona ubicadas en el distrito de Kimbiri. En total, se colectaron 50 muestras conformadas por frutos en estado verde, provenientes de huertos que presentaban síntomas visibles, como lesiones necróticas. Las muestras fueron colocadas en bolsas de papel con su respectiva etiqueta de información, para luego ser trasladadas al laboratorio.

En el laboratorio se llevó a cabo el protocolo de desinfección, el cual consistió en lavar las muestras con agua, sumergirlas en hipoclorito de sodio al 2% durante 5 minutos, enjuagarlas tres veces con agua estéril y secarlas con papel toalla estéril. Posterior a esto se dejó las muestras en cámaras húmedas a temperatura ambiente por un periodo de 5 a 12 días.

Después del tiempo transcurrido, las muestras que presentaron esporulación fueron sembradas en placas de Petri con medio Papa Dextrosa Agar (PDA). Tras cinco días de incubación a 25 °C, se observó el desarrollo de los aislados. Posteriormente, se realizaron montajes microscópicos, para lo cual se usó lactofenol azul y láminas porta y cubre objetos para luego ser observado en el microscopio. Los aislados seleccionados fueron purificados e incubados a 25 °C durante un periodo de 5 a 8 días. Finalmente, se conservaron en frío con la técnica de tubo inclinado con medio PDA.

2.2.2 Caracterización morfológica

Los aislamientos se caracterizaron teniendo en cuenta sus estructuras morfológicas asexuales. Para la identificación del género se emplearon las claves taxonómicas de Barnett y Hunter (1998), así como publicaciones científicas de diversos autores. Las variables evaluadas incluyeron características macroscópicas, como el color de la colonia, tipo de micelio y la tasa de crecimiento, y microscópicas, como el tamaño y la forma de los conidios. Para ello, los aislamientos fueron cultivados en medio de cultivo PDA e incubados a 25 °C, durante un periodo que varió según el aislamiento. Posteriormente, se analizaron las variables previamente descritas.

a. Tamaño de conidios

Se midieron la longitud y el ancho de 50 conidios maduros utilizando un microscopio con pantalla de la línea BioBlue.

b. Tasa de crecimiento

La evaluación se realizó a través del registro diario de datos hasta que el micelio cubrió completamente el medio de cultivo en la placa. Las mediciones del crecimiento se efectuaron utilizando una regla graduada.

c. Color de colonia

Se evaluó cada aislado mediante observación visual.

d. Tipo de micelio

Se evaluó mediante observación visual.

e. Forma de conidios

Se realizó mediante la observación de conidios maduros utilizando un microscopio con pantalla (BioBlue).

2.2.3 Caracterización molecular

Para la caracterización molecular se seleccionaron los aislamientos representativos, previamente identificados a través de la caracterización morfológica.

a. Extracción de ADN

Para el procedimiento se utilizó el kit NucleoSpin® Microbial DNA (Macherey-Nagel), siguiendo el protocolo establecido por el fabricante. La fase de lisis se efectuó con el Bead Tube Type B incluido en el kit, y el lisado obtenido se aplicó a las columnas de purificación, continuando posteriormente con los lavados indicados. Finalmente, el ADN fue eluido y resuspendido en 50 µL de buffer de elución para cada muestra.

Protocolo del kit NucleoSpin® Microbial DNA

1. Preparar la muestra
 - Tomar menos de 40 mg de pellet microbiano (peso húmedo).
 - Añadir 100 µL de Elution Buffer BE (buffer para el paso final de extracción).
2. Lisis de la muestra
 - Transferir la muestra a un MN Tube Type B (tubo con bolitas para romper células).
 - Añadir 40 µL de Buffer MG y 10 µL de Proteinasa K líquida (enzima que degrada proteínas).
 - Agitar en un sacudidor tipo swing mill durante 4–12 minutos.
 - Centrifugar a $11,000 \times g$ durante 30 segundos.
3. Ajustar las condiciones de unión
 - Añadir 600 µL de Buffer MG para que el ADN pueda unirse a la columna.
 - Mezclar con vortex 3 segundos.
 - Centrifugar a $11,000 \times g$ por 30 segundos.
4. Unir el ADN
 - Cargar 500–600 µL de la muestra en la columna NucleoSpin® Microbial DNA.
 - Centrifugar a $11,000 \times g$ durante 30 segundos.
 - Esto hace que el ADN se adhiera a la membrana de sílice de la columna.
5. Lavar la membrana de sílice
 - 1er lavado: 500 µL de Buffer BW, centrifugar $11,000 \times g$, 30 s.
 - 2do lavado: 500 µL de Buffer B5, centrifugar $11,000 \times g$, 30 s.
 - Esto elimina impurezas como proteínas y sales.
6. Secar la membrana de sílice
 - Centrifugar la columna a $11,000 \times g$ durante 30 segundos para eliminar cualquier resto de lavado.

7. Eluir el ADN

- Añadir 100 µL de Elution Buffer BE.
- Dejar reposar a temperatura ambiente 1 min.
- Centrifugar a $11,000 \times g$ durante 30 segundos para recolectar el ADN puro.

b. Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)

Para la identificación molecular de los aislamientos representativos, se emplearon los iniciadores universales ITS1 e ITS4, dirigidos al gen ITS (Internal Transcribed Spacer).

Iniciadores específicos para el gen ITS:

- ITS1: 5' CTT GGT CAT TTA GAG GAA GTA A 3'
- ITS4: 5' CAG GAG ACT TGT ACA CGG TCC AG 3'

Preparación de la mezcla de reacción

La amplificación se realizó utilizando la mezcla maestra descrita en la Tabla 2.2.

Tabla 2.1

Preparación de mezcla maestra para amplificación

Componente	Volumen por reacción (µL)
AccuStart II PCR SuperMix	12.5
Primer Forward (10 µM)	0.5
Primer Reverse (10 µM)	0.5
ADN plantilla	2
Agua libre de nucleasas	9.5
Total	25.0

Condiciones de amplificación

La PCR se realizó con 35 ciclos, que incluyeron una desnaturalización a 94 °C por 30 segundos, un alineamiento a 56 °C por 30 segundos y una extensión a 70 °C por 60 segundos.

Electroforesis en gel

La verificación de los productos amplificados se realizó utilizando electroforesis en gel de agarosa al 1.5 %, conforme al protocolo descrito a continuación:

1. Preparar un gel de agarosa al 1.5 %

2. Cargar 5 μ L de cada reacción de PCR junto con 5 μ L del marcador molecular correspondiente.
3. Correr el gel a 100 V por 30 minutos.
4. Visualizar las bandas de ADN bajo luz azul utilizando el sistema Gelato.

c. Secuenciamiento de ADN

Las muestras fueron secuenciadas mediante el método de Sanger.

Análisis de secuenciación

Los resultados del secuenciamiento se obtuvieron en formato .ab1 y fueron analizados utilizando la aplicación Geneious Prime® 2024.0.5.

- En primer lugar, se realizó una curación de las secuencias, seleccionando y eliminando el ruido presente en los extremos de la secuencia.
- Posteriormente, se seleccionaron las secuencias Forward y Reverse, y se empleó la función Align/Assemble → Pairwise Aling y luego se dejó por default.
- Finalmente, la secuencia consenso obtenida se copió y guardó en un bloc de notas siguiendo el formato FASTA.

Aproximación taxonómica

La secuencia obtenida en formato fasta fue analizada mediante el algoritmo BLAST (Basic Local Alignment Search Tool), versión BLAST+ 2.15.0, utilizando el tipo “blastn” disponible en la base de datos del NCBI (National Center for Biotechnology Information).

Los parámetros empleados fueron los siguientes:

- Database: rRNA/ITS databases → Internal transcribed spacer region (ITS) from Fungi type and reference material.
- Organismo: se deja en blanco.
- Excluir (Modelo SM,XP/ Secuencias de muestras no cultivadas o ambientales): se deja en blanco, a menos que el investigador lo requiera.
- Optimize for: Highly similar sequences (megablast).
- Secuencias objetivo máximas: 100.
- Consultas cortas.

- Umbral esperado: 0.05.
- Word size: 28.
- Coincidencias máximas en un rango de consulta: 0.
- Puntuaciones de coincidencia/desajuste: 1,-2.
- Penalizaciones aplicadas cuando se introducen o se extienden huecos (Gap cost): Lineal.
- Filtro: Regiones de baja complejidad.
- Mascarilla: Máscara sólo para tabla de búsqueda.

2.2.4 Prueba de patogenicidad

Se realizó en frutos sanos de anona en estado verde y maduro, utilizando los aislamientos puros. Se utilizaron 2 frutos verdes y 2 frutos maduros por aislamiento, mientras que un fruto verde y uno maduro se emplearon como testigos.

Los frutos se lavaron con agua corriente, se desinfectaron con una solución de hipoclorito de sodio al 2 % durante cinco minutos, se enjuagaron tres veces con agua estéril (durante dos minutos cada vez) y finalmente se secaron con papel toalla estéril.

La inoculación se realizó mediante el método de herida, utilizando un estilete estéril. En cada fruto se marcaron 5 puntos en los cuales se realizaron las heridas y se transfirieron discos de PDA con crecimiento del patógeno. En los frutos testigo únicamente se realizaron heridas, sin aplicación del inóculo.

Los frutos inoculados fueron colocados en cámaras húmedas a temperatura ambiente. Entre los cinco y doce días posteriores a la inoculación, se evaluó la incidencia de la enfermedad y se registraron los síntomas observados. Finalmente, se realizaron montajes de los tejidos infectados para confirmar la identidad del agente causal.

CAPITULO III

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Aislamiento del agente causal de la antracnosis en anona

Los frutos verdes de anona que presentaron lesiones necróticas en forma de manchas negras (Figura 3.1 a–b), al ser inducidos a esporulación mediante cámara húmeda, desarrollaron masas conidiales de tonalidad salmón y naranja sobre el tejido infectado y en el pedúnculo (Figura 3.1 c–d). A partir de estas estructuras se obtuvieron 25 aislamientos puros pertenecientes al género *Colletotrichum*.

Estos resultados concuerdan con lo reportado por diversos autores, quienes señalaron que especies de *Colletotrichum* aisladas de frutos de anonáceas provocan síntomas característicos de antracnosis, manifestados como lesiones necróticas en forma de manchas oscuras (Álvarez & Tenesaca, 2022; Álvarez et al., 2014; Fan et al., 2025; Hernandez, 2024; Salinas et al., 2020). De manera similar, Villanueva et al. (2008) describieron en frutos de chirimoya manchas negras irregulares acompañadas de masas conidiales de color salmón a naranja, mientras que el pedúnculo presentó síntomas de pudrición y estructuras conidiales de igual tonalidad.

Figura 3.1

Síntomas y esporulación del patógeno en frutos de anona



Nota. (*) A-B. Lesiones necróticas en frutos verdes de anona colectados del campo. C-D. Esporulación de color salmón a naranja en frutos y pedúnculo después de ser incubados en cámara húmeda.

3.2 Identificación de las características morfológicas del género

Aislamientos del Grupo I

Los aislamientos M1, M2, M3, M23, M24 y M25 presentaron características morfológicas muy similares tanto en la observación macroscópica como en la microscópica, diferenciándose únicamente por ligeras variaciones en el tamaño de los conidios. Por este motivo, se agrupan para su descripción morfológica.

Las colonias presentaron una coloración blanca y una textura moderadamente algodonosa, con masas de conidios de tono naranja distribuidas en el centro y dispuestas de forma circular (Figuras 3.2, 3.4, 3.6, 3.8, 3.10 y 3.12a–b). Estas características fueron semejantes a las reportadas por Villanueva et al. (2008), quienes observaron colonias blancas acompañadas de masas conidiales mucilaginosas de color naranja en distintas especies del género *Colletotrichum*. De manera similar, Álvarez y Tenesaca (2022) reportaron colonias de color blanco con textura moderadamente algodonosa, mientras que Álvarez et al. (2014) y Xavier (2018) describieron texturas algodonosas y tonalidades que variaron de blanco a gris claro. Asimismo, las colonias cubrieron toda la placa en un período de 9 días, con una tasa promedio de crecimiento de 0.55 cm/día.

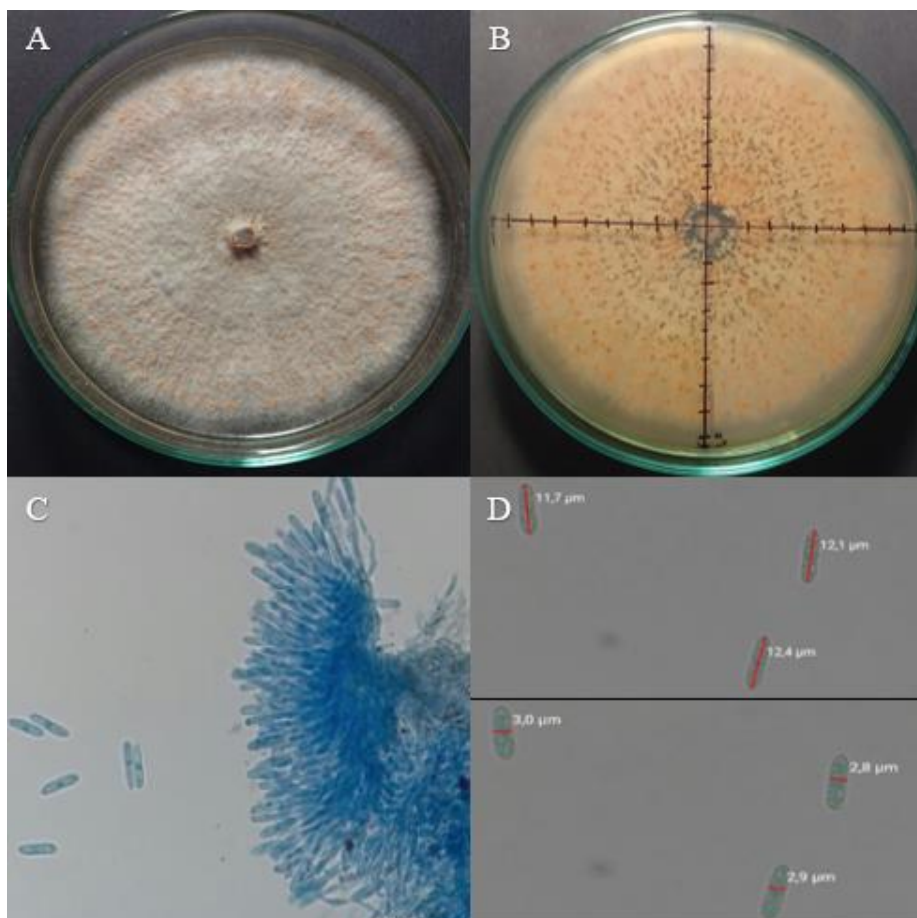
Microscópicamente, los aislamientos analizados presentaron conidios hialinos, cilíndricos, con extremos redondeados y un tamaño promedio de $11.64\text{--}13.42 \times 3.0\text{--}3.3 \mu\text{m}$, además de conidióforos simples y alargados (Figuras 3.2, 3.4, 3.6, 3.8, 3.10 y 3.12c–d, 3.3, 3.5, 3.7, 3.9, 3.11 y 3.13). Estas características concuerdan en gran medida con las descritas por diversos autores para especies del género *Colletotrichum*. Xavier (2018) reportó que los conidios de *C. gloeosporioides* son hialinos, cilíndricos, aseptados y con extremos redondeados, con dimensiones de $12\text{--}15 \times 3\text{--}5 \mu\text{m}$. De manera similar, Álvarez et al. (2014) observaron conidios cilíndricos de $12.5\text{--}13.75 \times 3.12\text{--}3.75 \mu\text{m}$ en *C. gloeosporioides*, mientras que *C. tropicale* presentó medidas ligeramente menores ($11.25\text{--}12.51 \times 3.75\text{--}4.38 \mu\text{m}$).

Otros estudios también coinciden en la forma general de los conidios. Villanueva et al. (2008) describieron conidios hialinos, aseptados y cilíndricos, y Álvarez y Tenesaca (2022) señalaron que presentan ambos extremos redondeados. Barnett y Hunter (1998) indicaron que el género *Colletotrichum* se distingue por producir conidios unicelulares e hialinos, sostenidos por conidióforos simples y alargados.

Sin embargo, las dimensiones registradas en el presente estudio fueron ligeramente menores a las informadas por algunos de los autores anteriores. Esta variación podría atribuirse a diversos factores. Según Barquero et al. (2013), la morfología de las colonias de *Colletotrichum sp.* varía de acuerdo con el hospedante y el medio de cultivo. De manera complementaria, Pérez et al. (2003) indicaron que el tamaño de los conidios puede modificarse tanto en condiciones de campo como en condiciones controladas.

Figura 3.2

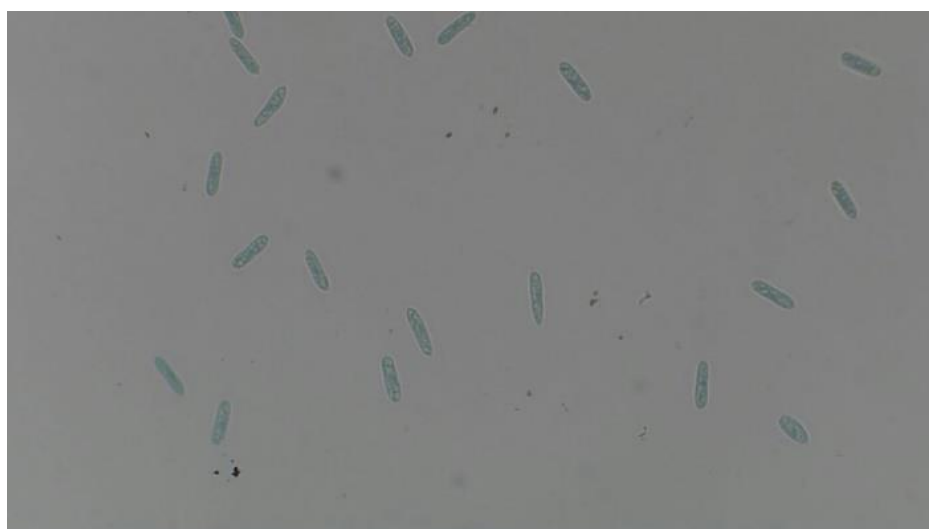
Características macroscópicas y microscópicas del aislamiento M1



Nota. (*) A-B. Placas de cultivo que muestran el crecimiento de la colonia M1, en su vista frontal y reverso. Observación microscópica de las estructuras de M1 con objetivo 40x: C. Conidióforos. D. Dimensiones de los conidios.

Figura 3.3

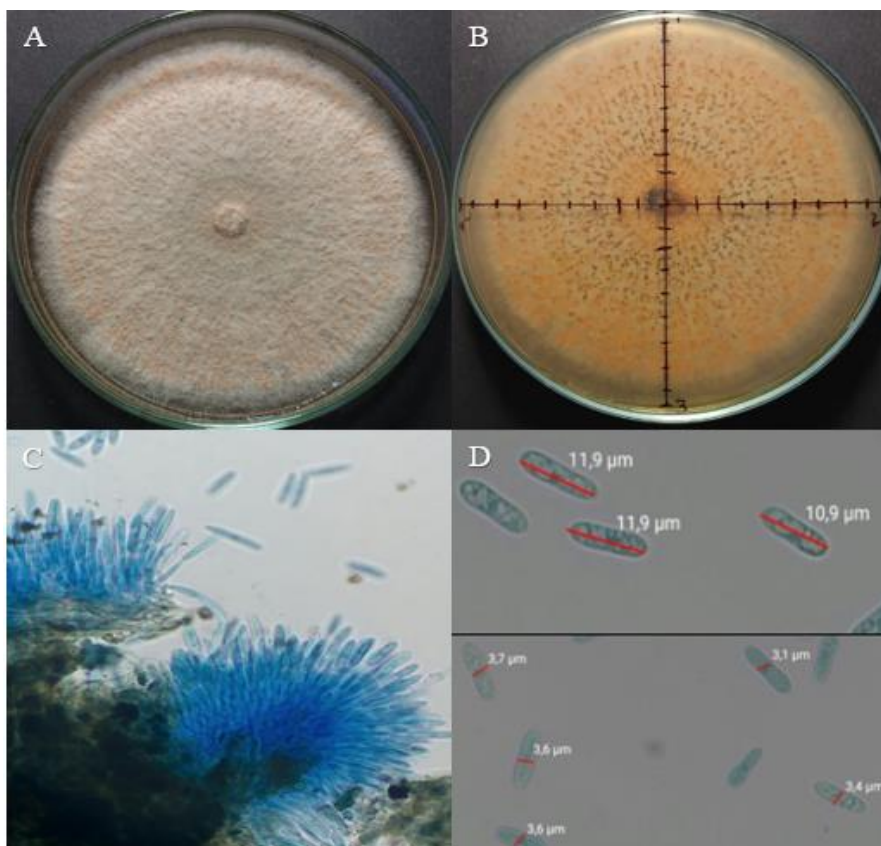
Conidias del aislamiento M1



Nota. (*) Observación microscópica de las conidias de M1 con objetivo 40x.

Figura 3.4

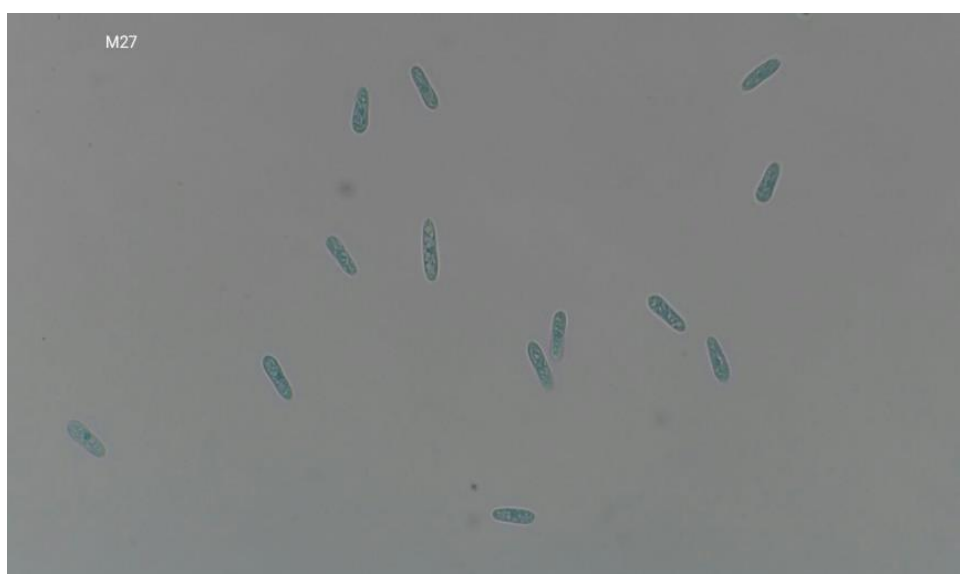
Características macroscópicas y microscópicas del aislamiento M2



Nota. (*) A-B. Placas de cultivo que muestran el crecimiento de la colonia M2, en su vista frontal y reverso. Observación microscópica de las estructuras de M2 con objetivo 40x: C. Conidióforos. D. Dimensiones de los conidios.

Figura 3.5

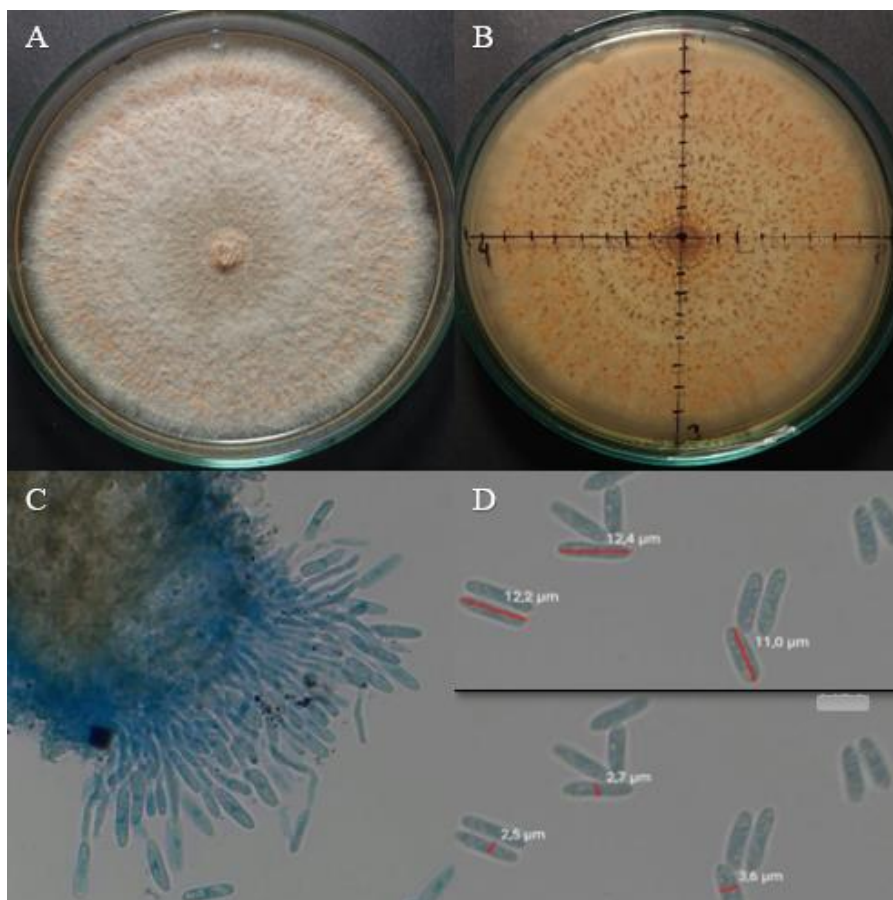
Conidias del aislamiento M2



Nota. (*) Observación microscópica de las conidias de M2 con objetivo 40x.

Figura 3.6

Características macroscópicas y microscópicas del aislamiento M3



Nota. (*) A-B. Placas de cultivo que muestran el crecimiento de la colonia M3, en su vista frontal y reverso. Observación microscópica de las estructuras de M3 con objetivo 40x: C. Conidióforos. D. Dimensiones de los conidios.

Figura 3.7

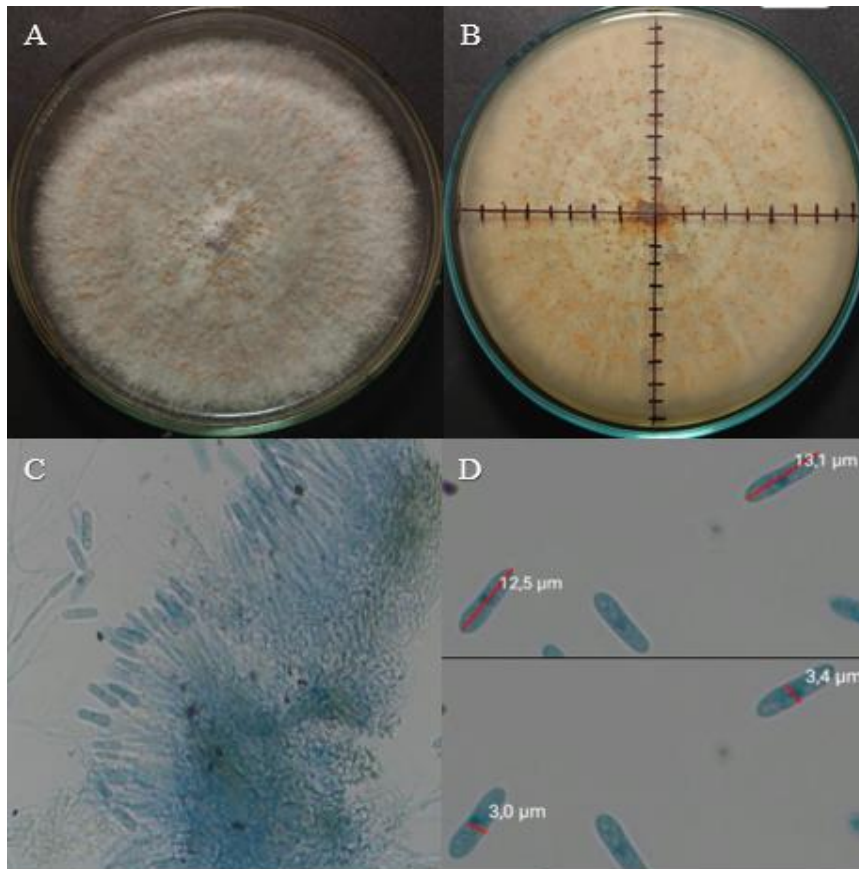
Conidias del aislamiento M3



Nota. (*) Observación microscópica de las conidias de M3 con objetivo 40x.

Figura 3.8

Características macroscópicas y microscópicas del aislamiento M23



Nota. (*) A-B. Placas de cultivo que muestran el crecimiento de la colonia M23, en su vista frontal y reverso. Observación microscópica de las estructuras de M23 con objetivo 40x: C. Conidióforos. D. Dimensiones de los conidios.

Figura 3.9

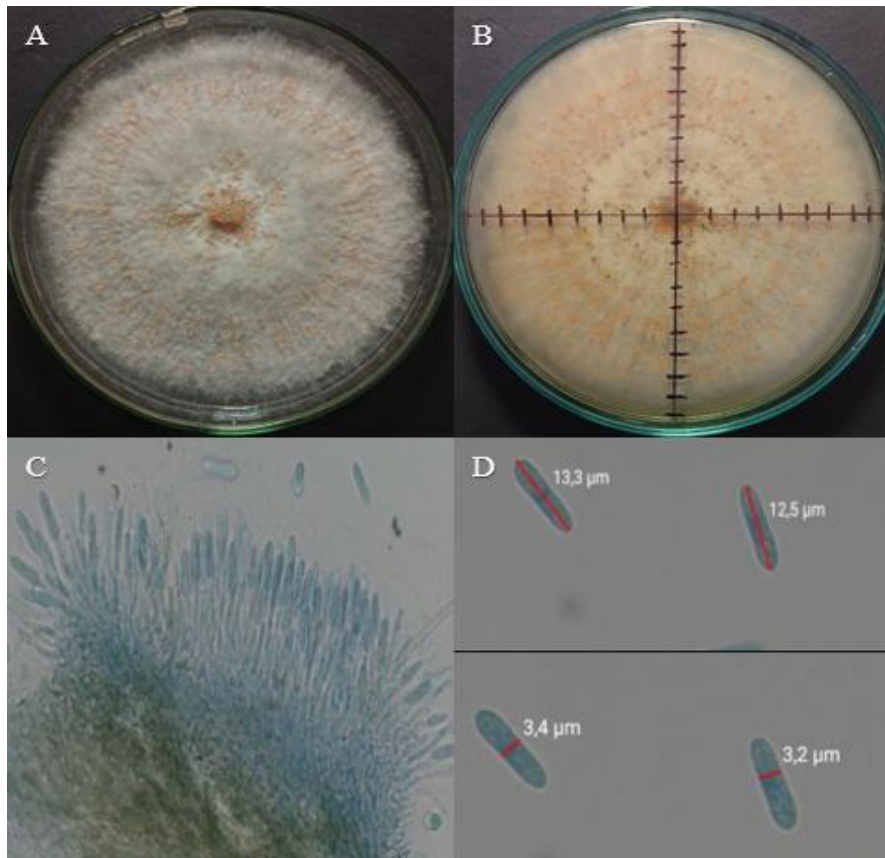
Conidias del aislamiento M23



Nota. (*) Observación microscópica de las conidias de M23 con objetivo 40x.

Figura 3.10

Características macroscópicas y microscópicas del aislamiento M24



Nota. (*) A-B. Placas de cultivo que muestran el crecimiento de la colonia M24, en su vista frontal y reverso. Observación microscópica de las estructuras de M24 con objetivo 40x: C. Conidióforos. D. Dimensiones de los conidios.

Figura 3.11

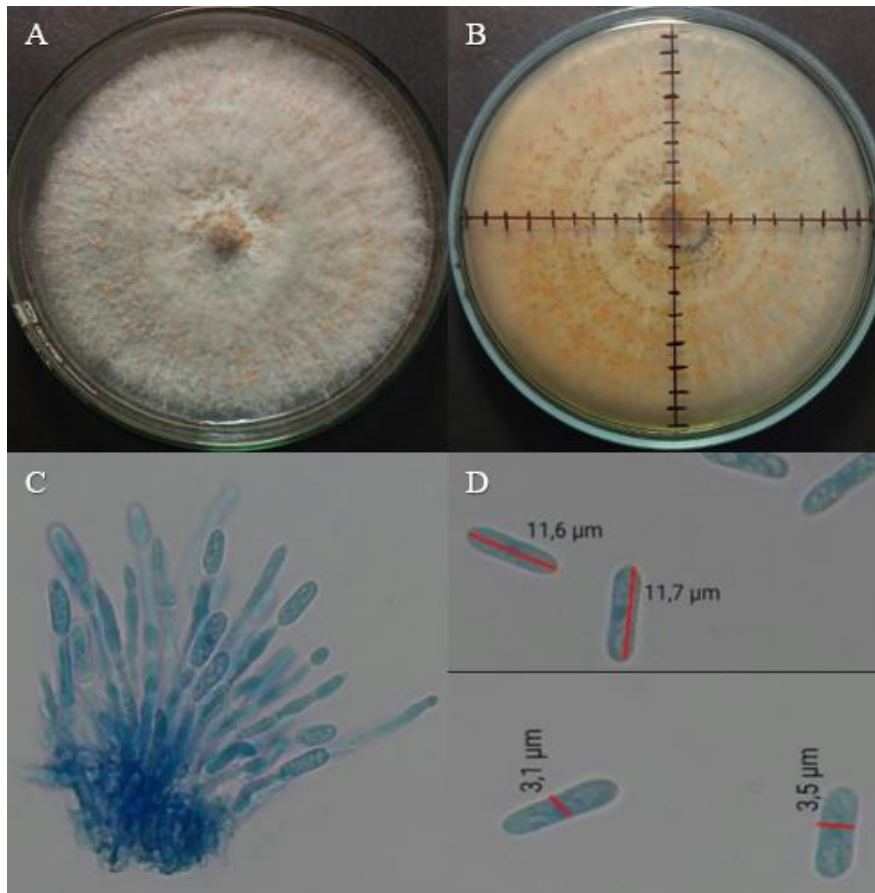
Conidias del aislamiento M24



Nota. (*) Observación microscópica de las conidias de M24 con objetivo 40x.

Figura 3.12

Características macroscópicas y microscópicas del aislamiento M25



Nota. (*) A-B. Placas de cultivo que muestran el crecimiento de la colonia M25, en su vista frontal y reverso. Observación microscópica de las estructuras de M25 con objetivo 40x: C. Conidióforos. D. Dimensiones de los conidios.

Figura 3.13

Conidias del aislamiento M25



Nota. (*) Observación microscópica de las conidias de M25 con objetivo 40x.

Aislamientos del Grupo II

Los aislamientos M4, M5, M6, M7, M8, M9 y M10 presentaron características morfológicas muy similares tanto en la observación macroscópica como microscópica, diferenciándose únicamente por ligeras variaciones en el tamaño de los conidios y en la tasa de crecimiento. Por este motivo, se agrupan para su descripción morfológica.

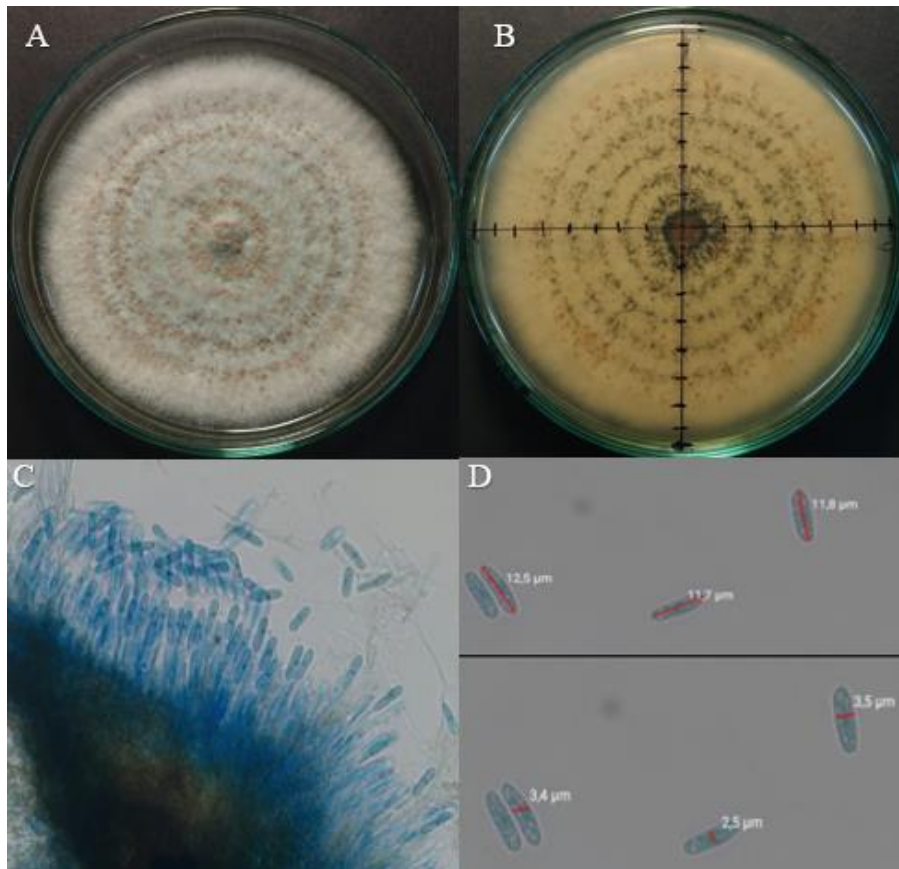
Las colonias presentaron un color blanco y textura moderadamente algodonosa, con masas de conidios de color anaranjado distribuidas en círculos concéntricos, acompañadas de esclerocios, los cuales se presentaron como estructuras negras y amorfas (Figuras 3.14, 3.16, 3.18, 3.20, 3.22, 3.24 y 3.26a-b). Según Villanueva et al. (2005), las colonias de *Colletotrichum* se caracterizan por presentar tonalidades anaranjadas asociadas a las masas de conidios y por desarrollar micelio aéreo. Asimismo, estos autores reportaron la formación de estructuras negras y amorfas identificadas como esclerocios, las cuales se relacionan con el patrón de crecimiento en círculos concéntricos, coincidiendo con las observaciones del presente estudio.

De manera similar, Álvarez y Tenesaca (2022) describieron colonias de color blanco con textura moderadamente algodonosa, mientras que Hernandez (2024) mencionó colonias de *Colletotrichum* de color blanco a anaranjado, con textura algodonosa. Asimismo, las colonias cubrieron toda la placa en un período de 8 días, con una tasa promedio de crecimiento entre 0.61- 0.63 cm/día.

Microscópicamente, se observaron conidios hialinos, cilíndricos, con extremos redondeados, de tamaño promedio entre $11.81\text{--}12.57 \times 3.1\text{--}3.5 \mu\text{m}$. Además, presentaron conidióforos simples y alargados (Figuras 3.14, 3.16, 3.18, 3.20, 3.22, 3.24 y 3.26c-d, 3.15, 3.17, 3.19, 3.21, 3.23, 3.25 y 3.27). De acuerdo con Villanueva et al. (2005), los conidios de *Colletotrichum* son hialinos, cilíndricos, con extremos redondeados, siendo uno de ellos más angosto. De manera similar, Hernandez (2024) señaló que los conidios son hialinos, aseptados, cilíndricos, con extremos redondeados, y presentan dimensiones promedio de $7.72\text{--}11.92 \times 2.5\text{--}4.49 \mu\text{m}$. Por su parte, Kamei et al. (2014) describieron conidios cilíndricos y rectos, con ápices redondeados y uno de los extremos más angosto que el otro, con dimensiones promedio de $12.4 \times 5.1 \mu\text{m}$.

Figura 3.14

Características macroscópicas y microscópicas del aislamiento M4



Nota. (*) A-B. Placas de cultivo que muestran el crecimiento de la colonia M4, en su vista frontal y reverso. Observación microscópica de las estructuras de M4 con objetivo 40x: C. Conidióforos. D. Dimensiones de los conidios.

Figura 3.15

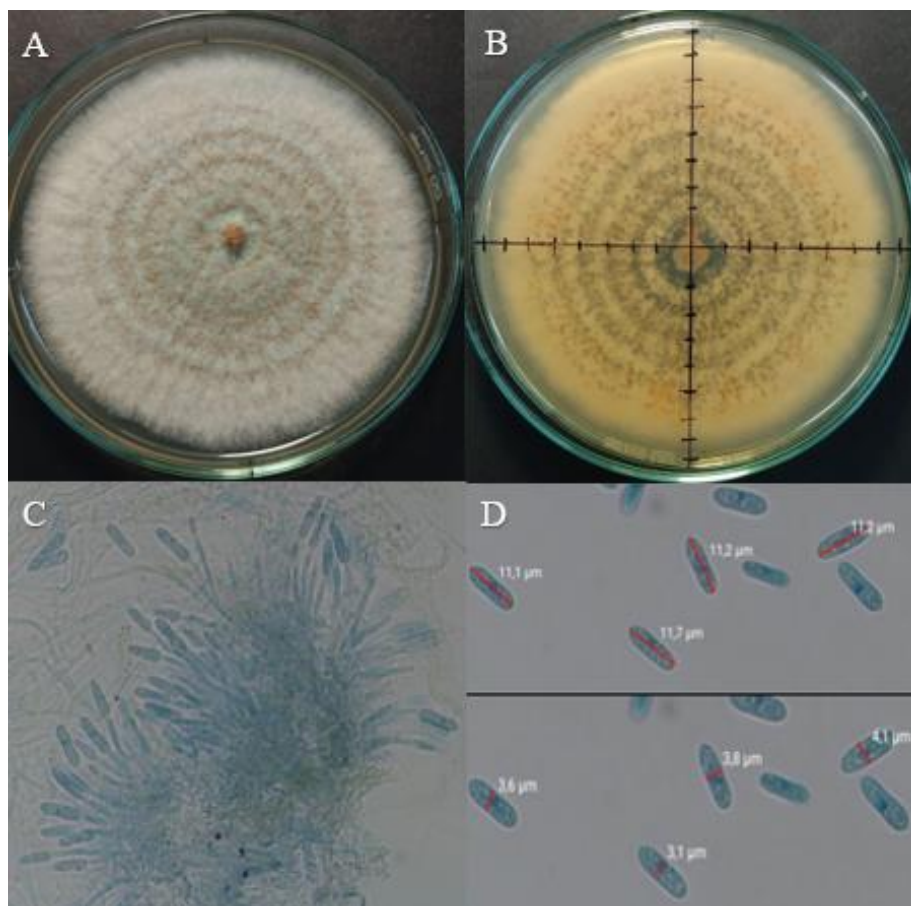
Conidias del aislamiento M4



Nota. (*) Observación microscópica de las conidias de M4 con objetivo 40x.

Figura 3.16

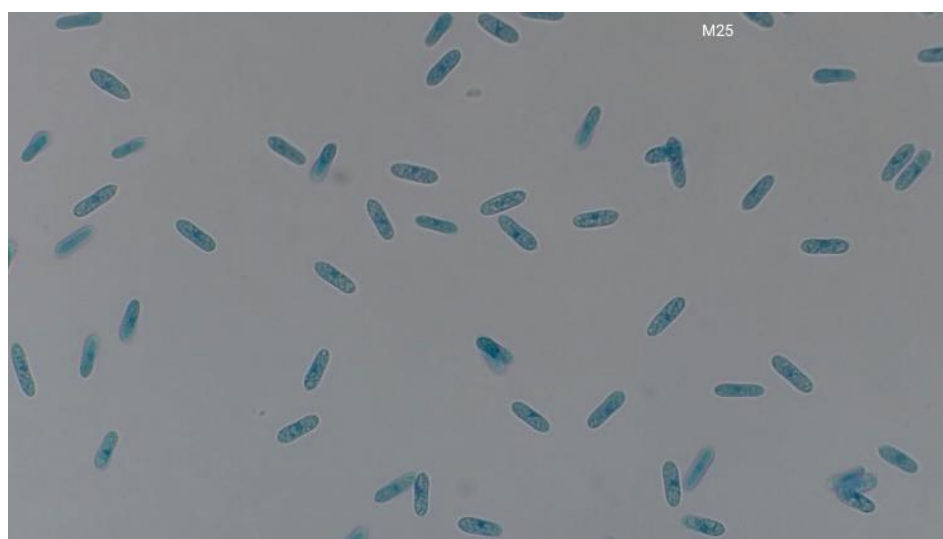
Características macroscópicas y microscópicas del aislamiento M5



Nota. (*) A-B. Placas de cultivo que muestran el crecimiento de la colonia M5, en su vista frontal y reverso. Observación microscópica de las estructuras de M5 con objetivo 40x: C. Conidióforos. D. Dimensiones de los conidios.

Figura 3.17

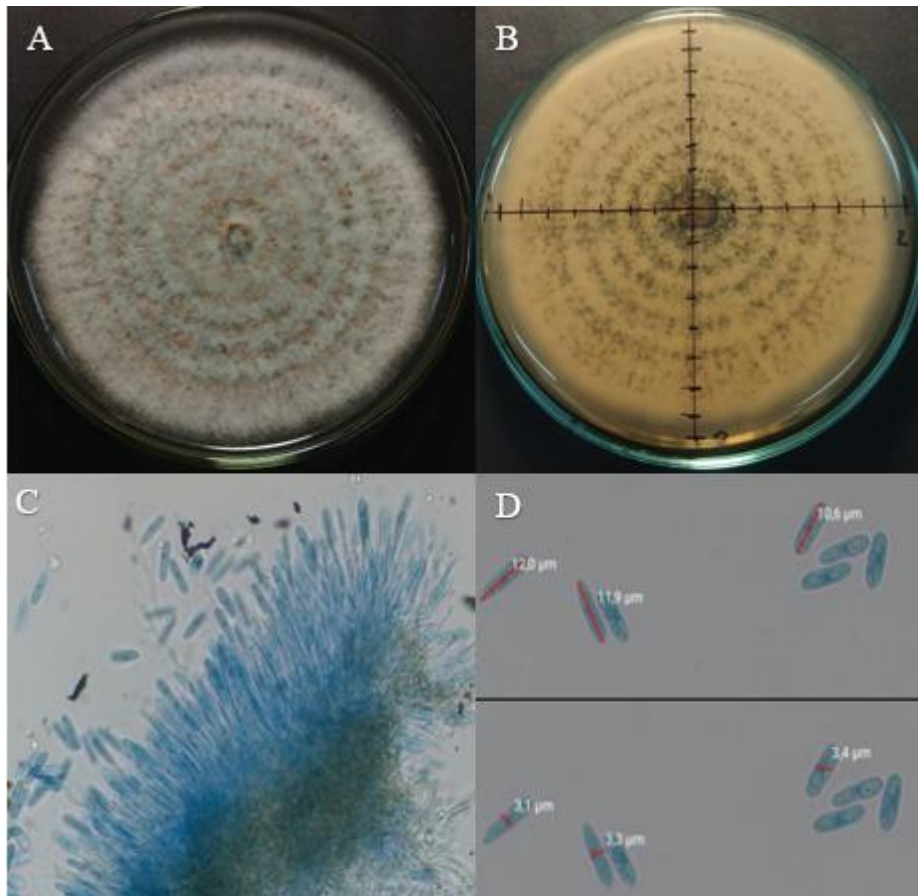
Conidias del aislamiento M5



Nota. (*) Observación microscópica de las conidias de M5 con objetivo 40x.

Figura 3.18

Características macroscópicas y microscópicas del aislamiento M6



Nota. (*) A-B. Placas de cultivo que muestran el crecimiento de la colonia M6, en su vista frontal y reverso. Observación microscópica de las estructuras de M6 con objetivo 40x: C. Conidióforos. D. Dimensiones de los conidios.

Figura 3.19

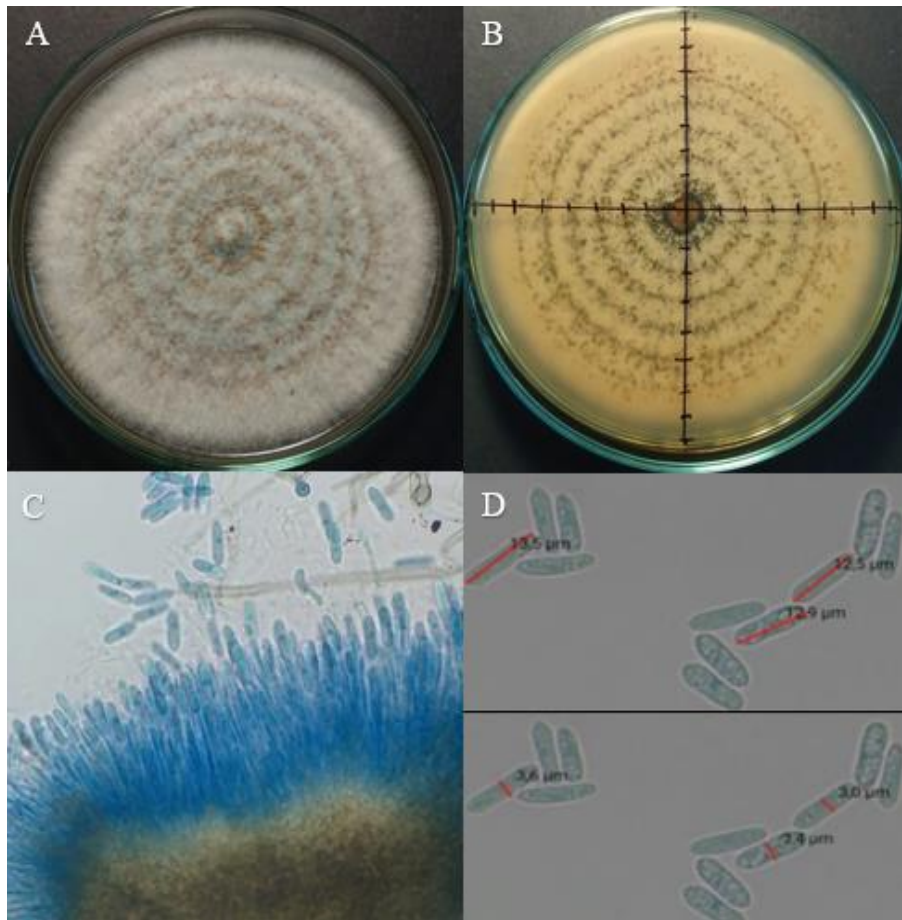
Conidias del aislamiento M6



Nota. (*) Observación microscópica de las conidias de M6 con objetivo 40x.

Figura 3.20

Características macroscópicas y microscópicas del aislamiento M7



Nota. (*) A-B. Placas de cultivo que muestran el crecimiento de la colonia M7, en su vista frontal y reverso. Observación microscópica de las estructuras de M7 con objetivo 40x: C. Conidióforos. D. Dimensiones de los conidios.

Figura 3.21

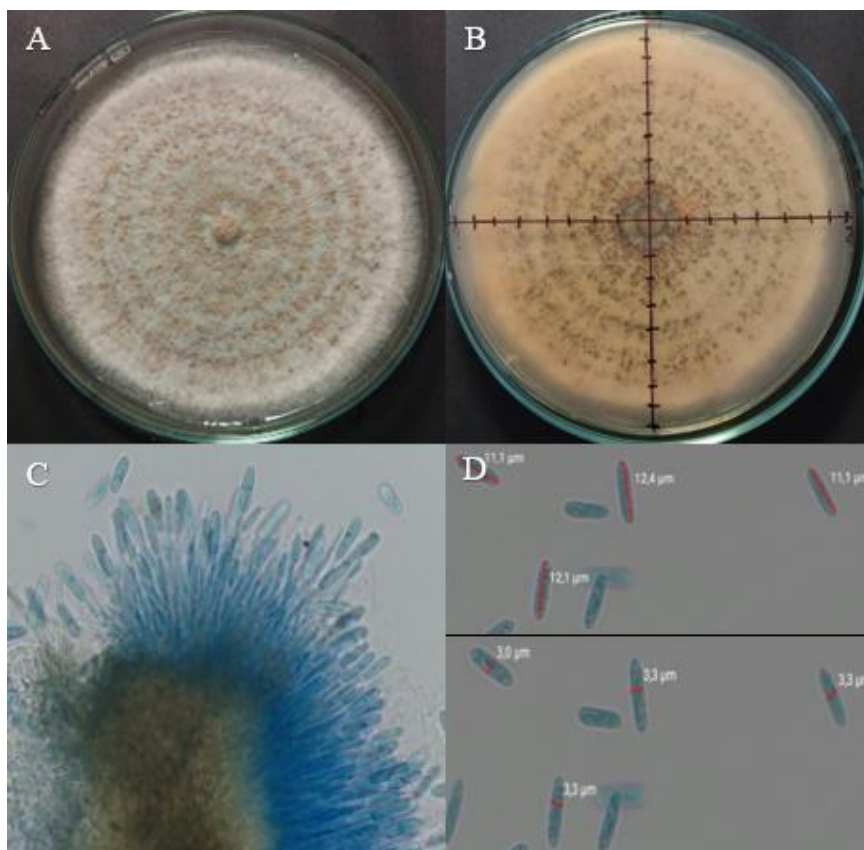
Conidias del aislamiento M7



Nota. (*) Observación microscópica de las conidias de M7 con objetivo 40x.

Figura 3.22

Características macroscópicas y microscópicas del aislamiento M8



Nota. (*) A-B. Placas de cultivo que muestran el crecimiento de la colonia M8, en su vista frontal y reverso. Observación microscópica de las estructuras de M8 con objetivo 40x: C. Conidióforos. D. Dimensiones de los conidios.

Figura 3.23

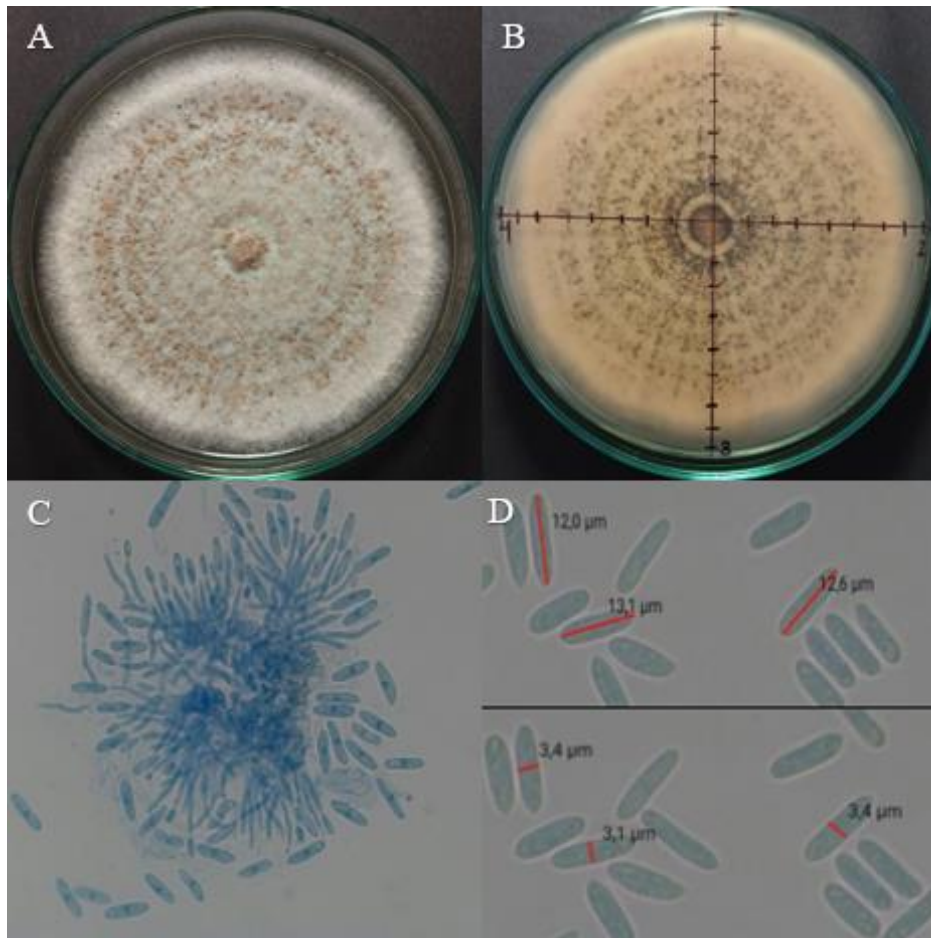
Conidias del aislamiento M8



Nota. (*) Observación microscópica de las conidias de M8 con objetivo 40x.

Figura 3.24

Características macroscópicas y microscópicas del aislamiento M9



Nota. (*) A-B. Placas de cultivo que muestran el crecimiento de la colonia M9, en su vista frontal y reverso. Observación microscópica de las estructuras de M9 con objetivo 40x: C. Conidióforos. D. Dimensiones de los conidios.

Figura 3.25

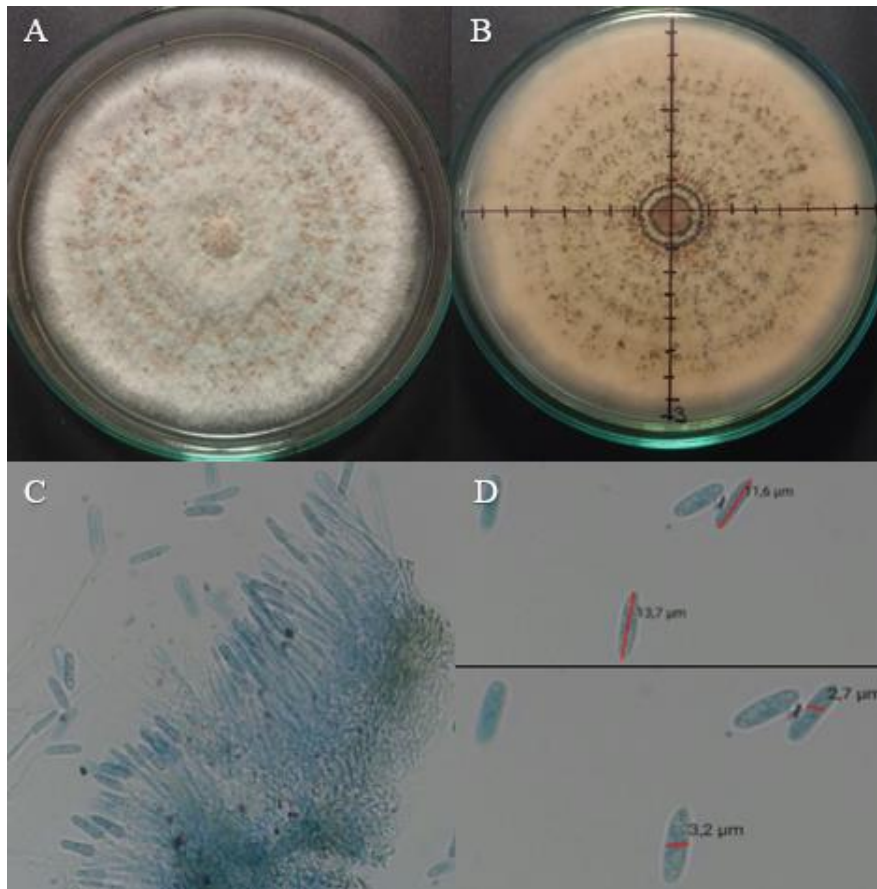
Conidias del aislamiento M9



Nota. (*) Observación microscópica de las conidias de M9 con objetivo 40x.

Figura 3.26

Características macroscópicas y microscópicas del aislamiento M10



Nota. (*) A-B. Placas de cultivo que muestran el crecimiento de la colonia M10, en su vista frontal y reverso. Observación microscópica de las estructuras de M10 con objetivo 40x: C. Conidióforos. D. Dimensiones de los conidios.

Figura 3.27

Conidias del aislamiento M10



Nota. (*) Observación microscópica de las conidias de M10 con objetivo 40x.

Aislamientos del Grupo III

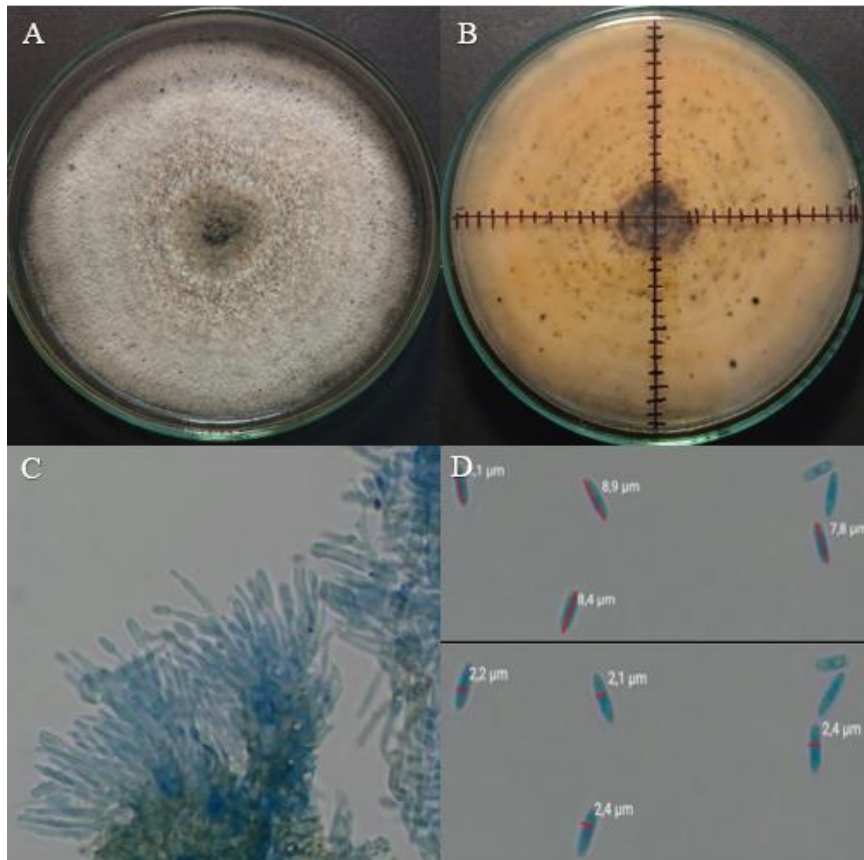
Los aislamientos M11, M12, M13, M17, M18 y M19 presentaron características morfológicas muy similares tanto en la observación macroscópica como microscópica, diferenciándose únicamente por ligeras variaciones en el tamaño de los conidios y en la tasa de crecimiento. Por ello, se agrupan para su descripción morfológica.

Las colonias presentaron un color blanco a gris y textura moderadamente algodonosa, con masas conidiales de color salmón distribuidas en el centro y en anillos concéntricos irregulares, acompañadas de esclerocios (Figuras 3.28, 3.30, 3.32, 3.34, 3.36 y 3.38a-b). De acuerdo con Salinas et al. (2020), las colonias de *C. siamense* presentan textura algodonosa y experimentan un cambio progresivo de color, pasando de blanco a salmón pálido. De manera similar, otros autores han reportado que las especies del género *Colletotrichum* muestran variabilidad en el color de las colonias, que puede ir de blanco a salmón pálido, blanco grisáceo o gris, manteniendo generalmente una textura algodonosa (Álvarez et al., 2014; Hernandez, 2024). Por otro lado, Fan et al. (2025) señalaron que las colonias de *C. fructicola* pueden formar anillos concéntricos durante su desarrollo, un patrón de crecimiento que también se observó en el presente estudio. Asimismo, las colonias cubrieron toda la placa en un período de 13 a 15 días, con una tasa promedio de crecimiento entre 0.33- 0.35 cm/día.

Microscópicamente, se observaron conidios hialinos y fusiformes, de tamaño promedio entre $9.24\text{--}10.16 \times 2.5\text{--}2.7 \mu\text{m}$. Además, presentaron conidióforos simples y alargados (Figuras 3.28, 3.30, 3.32, 3.34, 3.36 y 3.38c-d, 3.29, 3.31, 3.33, 3.35, 3.37 y 3.39). De manera similar, Salinas et al. (2020) describieron conidios hialinos y principalmente fusiformes, con tamaños que oscilaron entre 8-17 μm de longitud y 3-4.5 μm de ancho, lo que coincide parcialmente con las dimensiones observadas en este estudio.

Figura 3.28

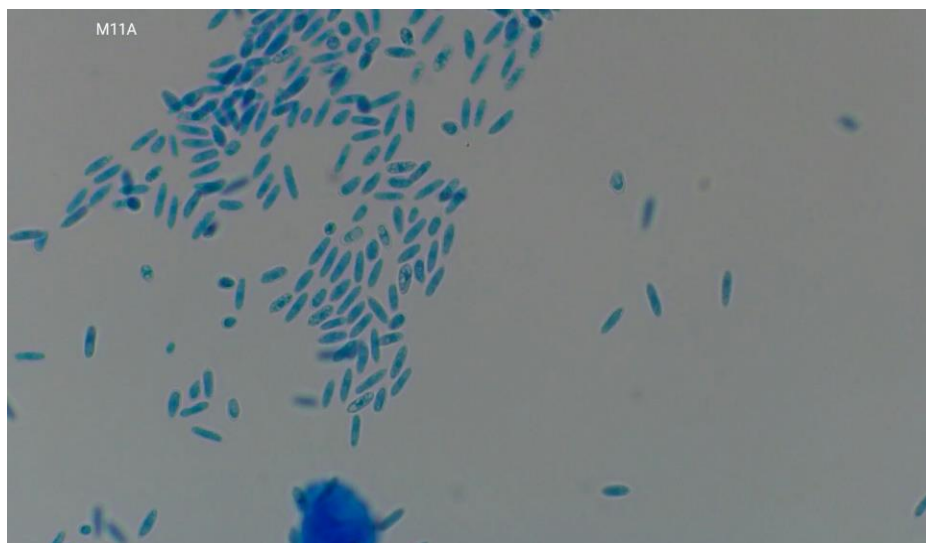
Características macroscópicas y microscópicas del aislamiento M11



Nota. (*) A-B. Placas de cultivo que muestran el crecimiento de la colonia M11, en su vista frontal y reverso. Observación microscópica de las estructuras de M11 con objetivo 40x: C. Conidióforos. D. Dimensiones de los conidios.

Figura 3.29

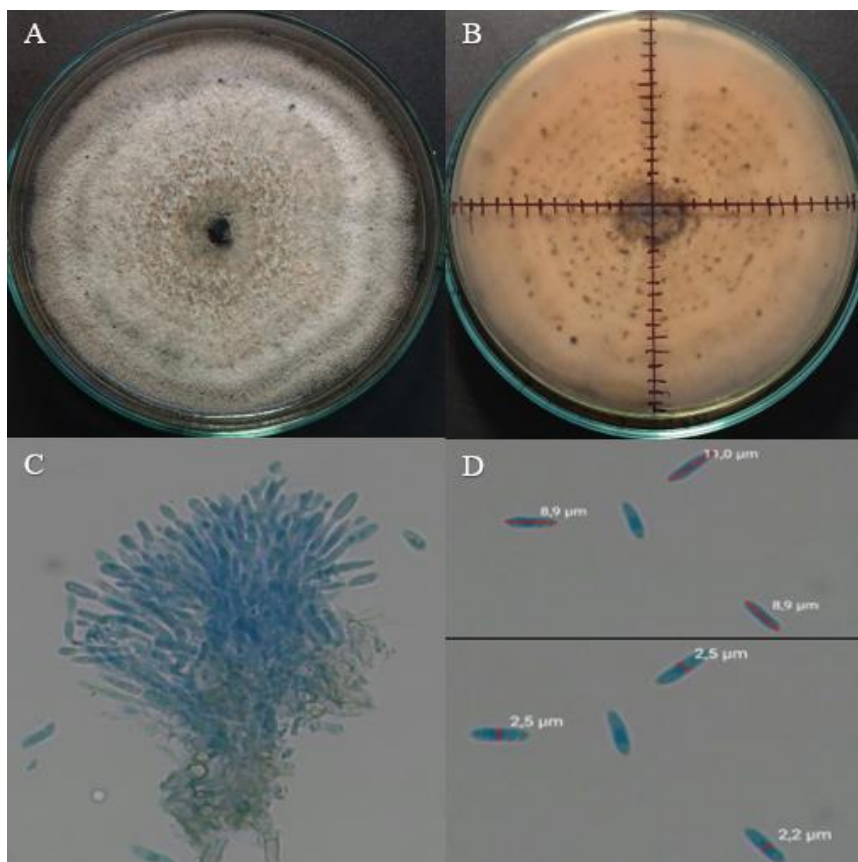
Conidias del aislamiento M11



Nota. (*) Observación microscópica de las conidias de M11 con objetivo 40x.

Figura 3.30

Características macroscópicas y microscópicas del aislamiento M12



Nota. (*) A-B. Placas de cultivo que muestran el crecimiento de la colonia M12, en su vista frontal y reverso. Observación microscópica de las estructuras de M12 con objetivo 40x: C. Conidióforos. D. Dimensiones de los conidios.

Figura 3.31

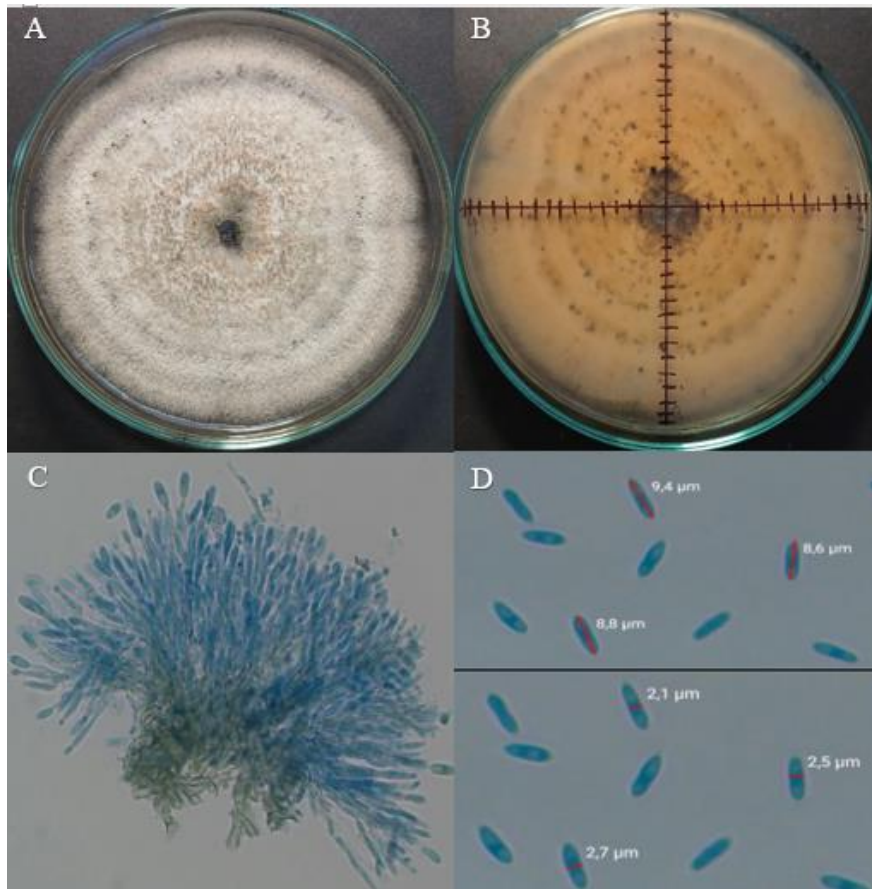
Conidias del aislamiento M12



Nota. (*) Observación microscópica de las conidias de M12 con objetivo 40x.

Figura 3.32

Características macroscópicas y microscópicas del aislamiento M13



Nota. (*) A-B. Placas de cultivo que muestran el crecimiento de la colonia M13, en su vista frontal y reverso. Observación microscópica de las estructuras de M13 con objetivo 40x: C. Conidióforos. D. Dimensiones de los conidios.

Figura 3.33

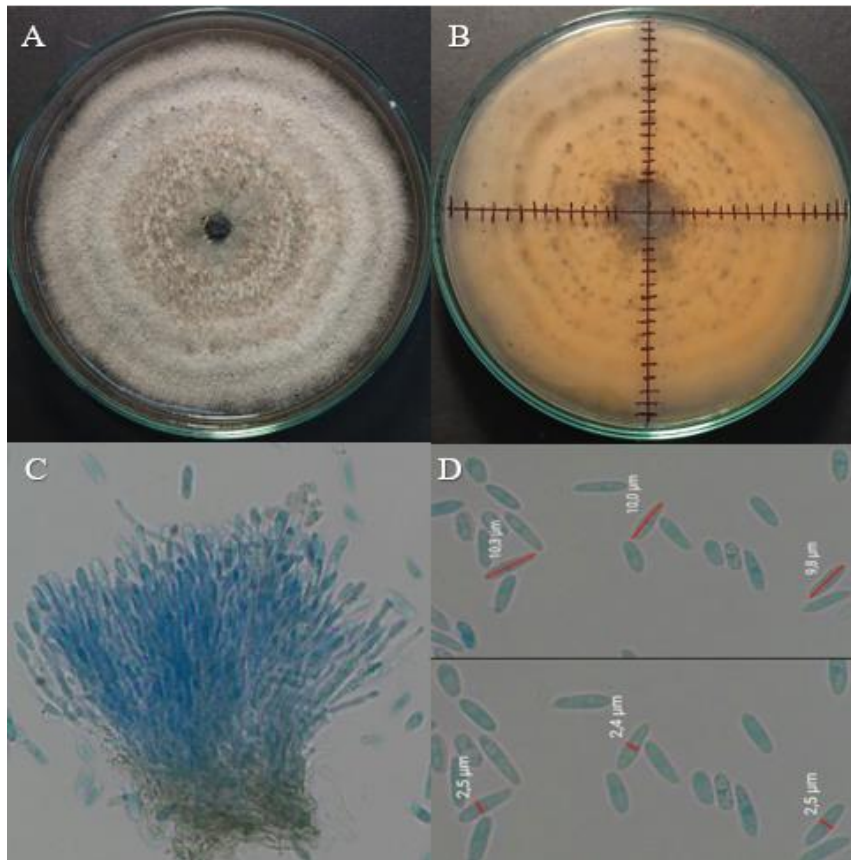
Conidias del aislamiento M13



Nota. (*) Observación microscópica de las conidias de M13 con objetivo 40x.

Figura 3.34

Características macroscópicas y microscópicas del aislamiento M17



Nota. (*) A-B. Placas de cultivo que muestran el crecimiento de la colonia M17, en su vista frontal y reverso. Observación microscópica de las estructuras de M17 con objetivo 40x: C. Conidióforos. D. Dimensiones de los conidios.

Figura 3.35

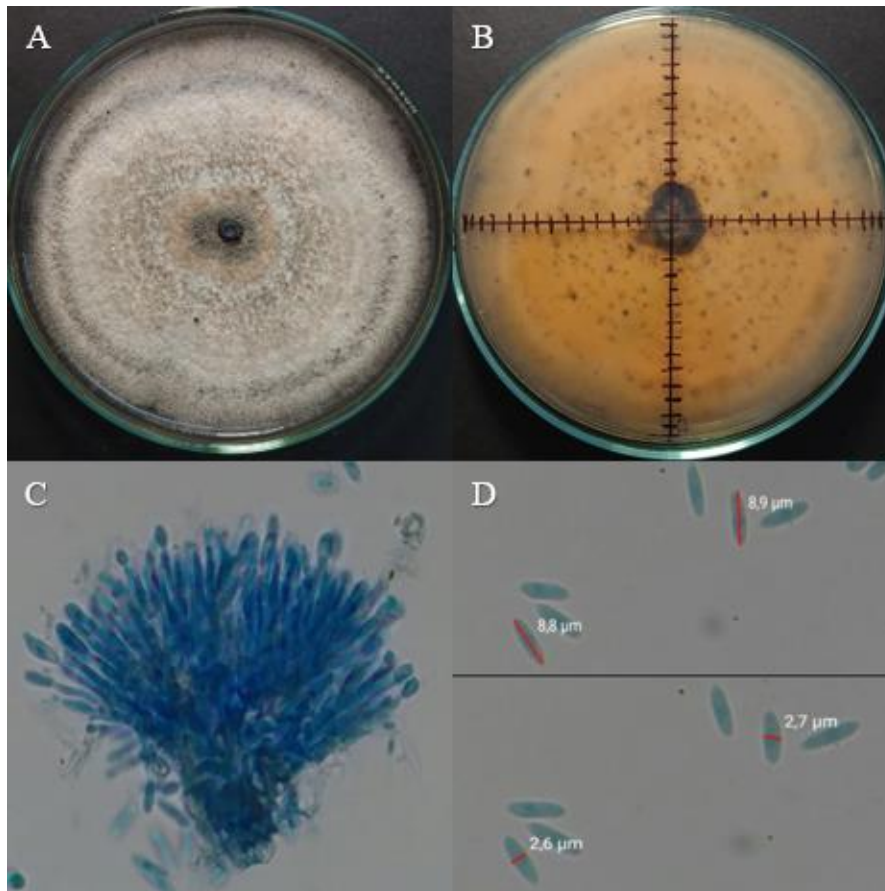
Conidias del aislamiento M17



Nota. (*) Observación microscópica de las conidias de M17 con objetivo 40x.

Figura 3.36

Características macroscópicas y microscópicas del aislamiento M18



Nota. (*) A-B. Placas de cultivo que muestran el crecimiento de la colonia M18, en su vista frontal y reverso. Observación microscópica de las estructuras de M18 con objetivo 40x: C. Conidióforos. D. Dimensiones de los conidios.

Figura 3.37

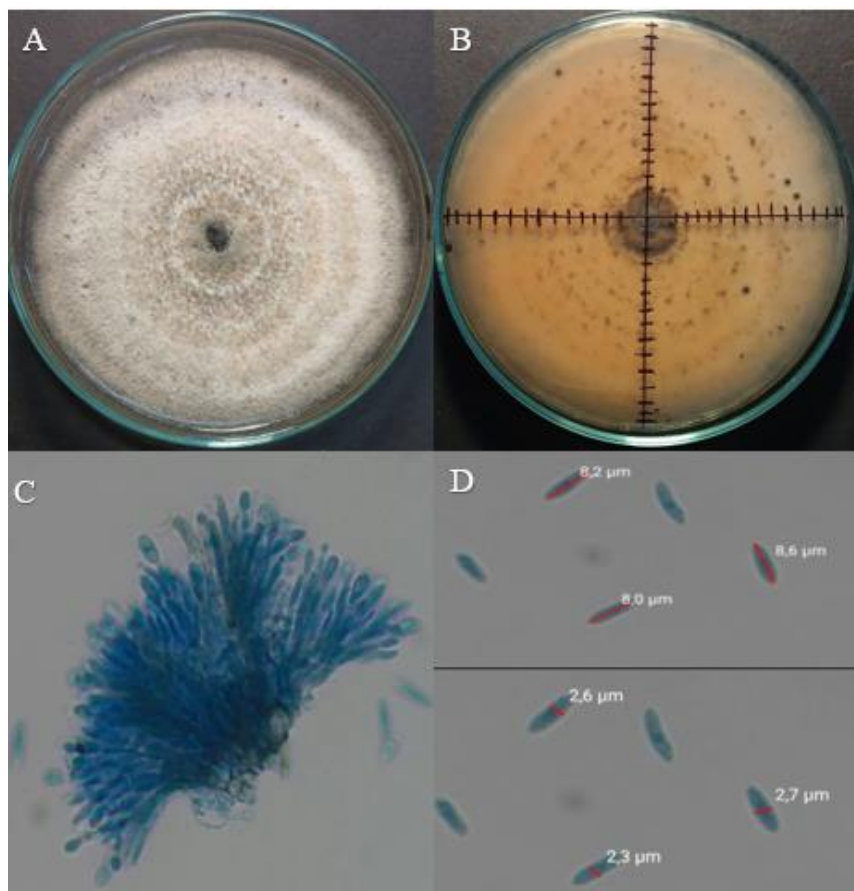
Conidias del aislamiento M18



Nota. (*) Observación microscópica de las conidias de M18 con objetivo 40x.

Figura 3.38

Características macroscópicas y microscópicas del aislamiento M19



Nota. (*) A-B. Placas de cultivo que muestran el crecimiento de la colonia M19, en su vista frontal y reverso. Observación microscópica de las estructuras de M19 con objetivo 40x: C. Conidióforos. D. Dimensiones de los conidios.

Figura 3.39

Conidias del aislamiento M19



Nota. (*) Observación microscópica de las conidias de M19 con objetivo 40x.

Aislamientos del Grupo IV

Los aislamientos M14, M15, M16, M20, M21 y M22 presentaron características morfológicas muy similares tanto en la observación macroscópica como microscópica, diferenciándose únicamente por ligeras variaciones en el tamaño de los conidios y en la tasa de crecimiento. Por ello, se agrupan para su descripción morfológica.

Las colonias presentaron un color verde grisáceo, con margen blanco y textura abundantemente algodonosa, con masas conidiales de color salmón distribuidas en el centro y en anillos concéntricos (Figuras 3.40, 3.43, 3.46, 3.49, 3.52 y 3.55a-b). De acuerdo con Fan et al. (2025), las colonias de *C. fructicola* presentaron inicialmente un color blanco, que posteriormente cambió a verde grisáceo, y durante su desarrollo formaron anillos concéntricos. Asimismo, estos autores reportaron la producción de masas de conidios de tonalidad naranja claro. De manera similar, Álvarez y Tenesaca (2022) observaron colonias de *Colletotrichum* con coloración gris oscuro y textura abundantemente algodonosa. Por su parte, Villanueva et al. (2008) describieron que las colonias mostraron variabilidad en la coloración, pasando de blanco a gris olivo, y desarrollaron masas conidiales mucilaginosas de color salmón. Además, las colonias cubrieron toda la placa en un período de 8 a 9 días, con una tasa promedio de crecimiento de 0.59- 0.63 cm/día.

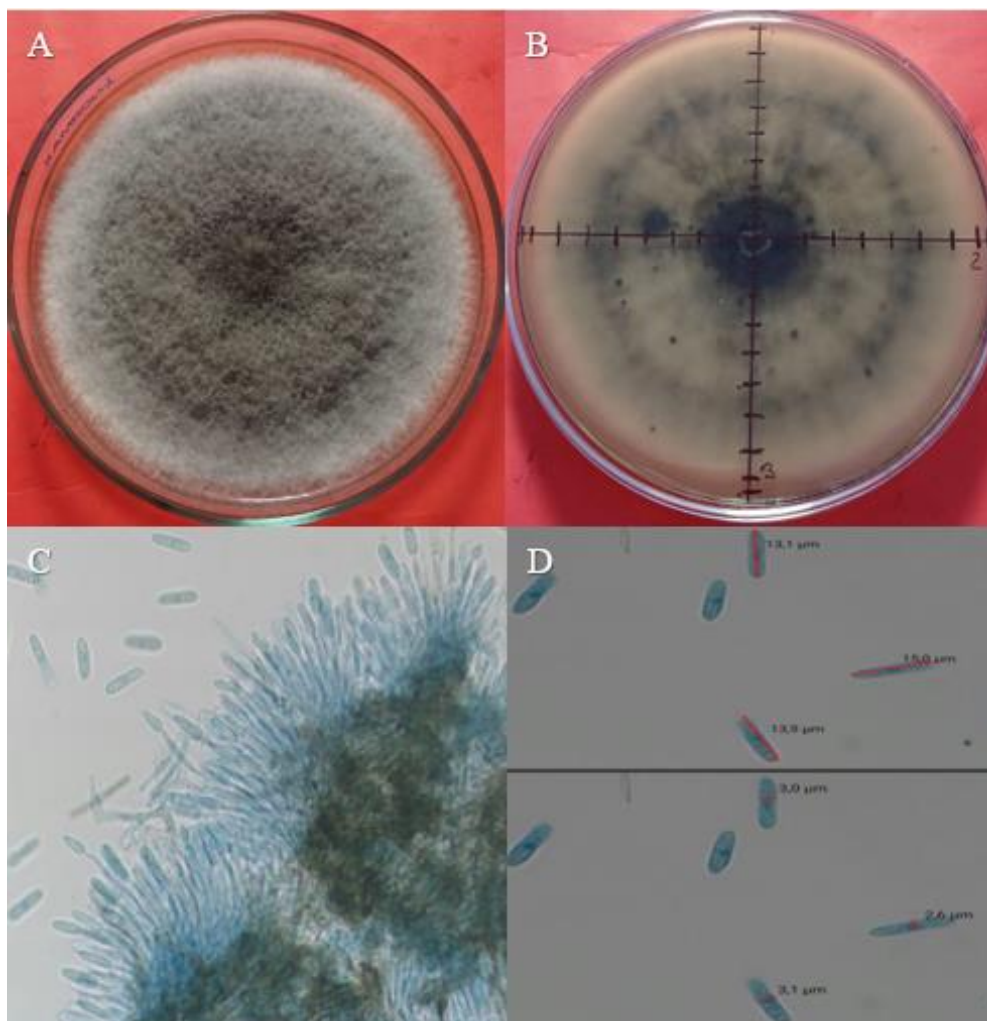
Microscópicamente, se observaron conidios hialinos, cilíndricos, con extremos redondeados, de tamaño promedio entre $14.38\text{--}15.03 \times 2.9\text{--}3.3 \mu\text{m}$. Además, presentaron conidióforos simples y alargados (Figuras 3.40, 3.43, 3.46, 3.49, 3.52 y 3.55c-d, 3.41, 3.44, 3.47, 3.50, 3.53 y 3.56). De acuerdo con Fan et al. (2025), los conidios presentaron una forma cilíndrica y unicelular, con dimensiones que oscilaron entre $11.09\text{--}20.02 \times 4.06\text{--}6.54 \mu\text{m}$. Por su parte, Álvarez et al. (2014) describieron los conidios de *C. theobromicola* como cilíndricos, a veces con un ligero estrechamiento hacia la base, con longitudes de $14.37\text{--}24.4 \mu\text{m}$ y anchos de $2.81\text{--}5.62 \mu\text{m}$. Asimismo, Xavier (2018) reportó que los conidios de *C. gloeosporioides* fueron hialinos, cilíndricos, aseptados, con extremos redondeados y dimensiones de $12\text{--}15 \times 3\text{--}5 \mu\text{m}$.

Estos aislamientos también presentaron estructuras sexuales, conformadas por peritecios oscuros, ascas y ascosporas hialinas. Las ascas mostraron un tamaño promedio de $44.58\text{--}56.59 \times 6.1\text{--}7.5 \mu\text{m}$, mientras que las ascosporas midieron entre $12.85\text{--}13.50 \times 3.2\text{--}3.5$

μm , siendo fusiformes y ligeramente curvadas (Figuras 3.42, 3.45, 3.48, 3.51, 3.54 y 3.57). De manera similar, Villanueva et al. (2008) reportaron que *C. gloeosporioides* produjo peritecios de color café oscuro, esféricos e inmersos en PDA, los cuales generaron ascosporas hialinas, unicelulares, curvadas y fusiformes, características que corresponden a su estado sexual, *Glomerella cingulata*. Por otra parte, Janick y Paull (2008) asociaron a *Glomerella cingulata* con la muerte regresiva de tallos y la pudrición de los frutos de anona.

Figura 3.40

Características macroscópicas y microscópicas del aislamiento M14



Nota. (*) A-B. Placas de cultivo que muestran el crecimiento de la colonia M14, en su vista frontal y reverso. Observación microscópica de las estructuras de M14 con objetivo 40x: C. Conidióforos. D. Dimensiones de los conidios.

Figura 3.41

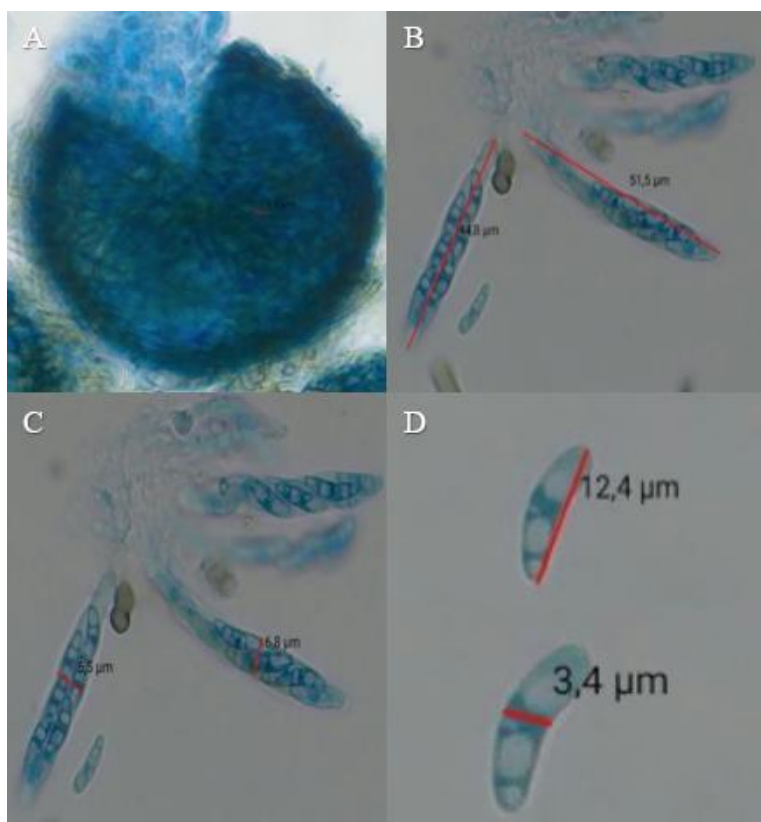
Conidias del aislamiento M14



Nota. (*) Observación microscópica de las conidias de M14 con objetivo 40x.

Figura 3.42

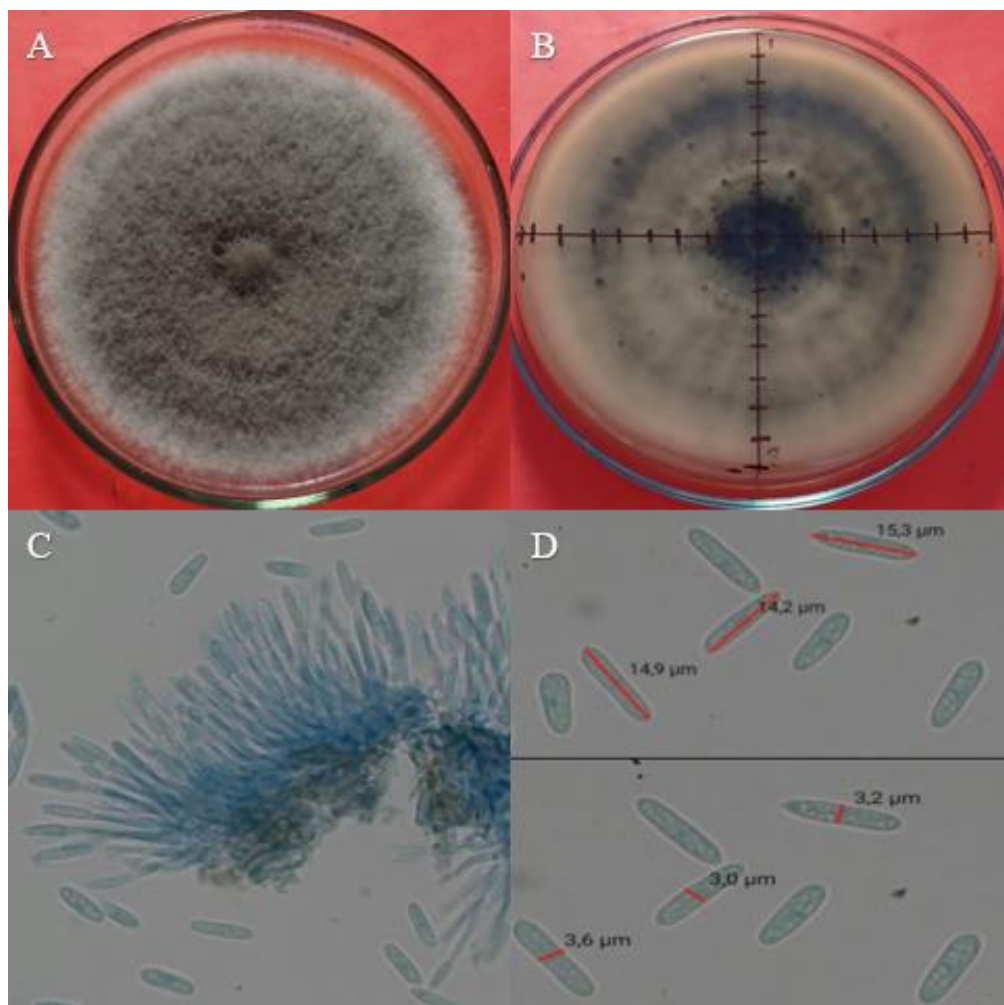
Estructuras sexuales del aislamiento M14



Nota. (*) Observación microscópica de M14 con objetivo 40x. A. Peritecio oscuro liberando ascas. B-C. Dimensiones de las ascas. D. Dimensiones de las ascosporas.

Figura 3.43

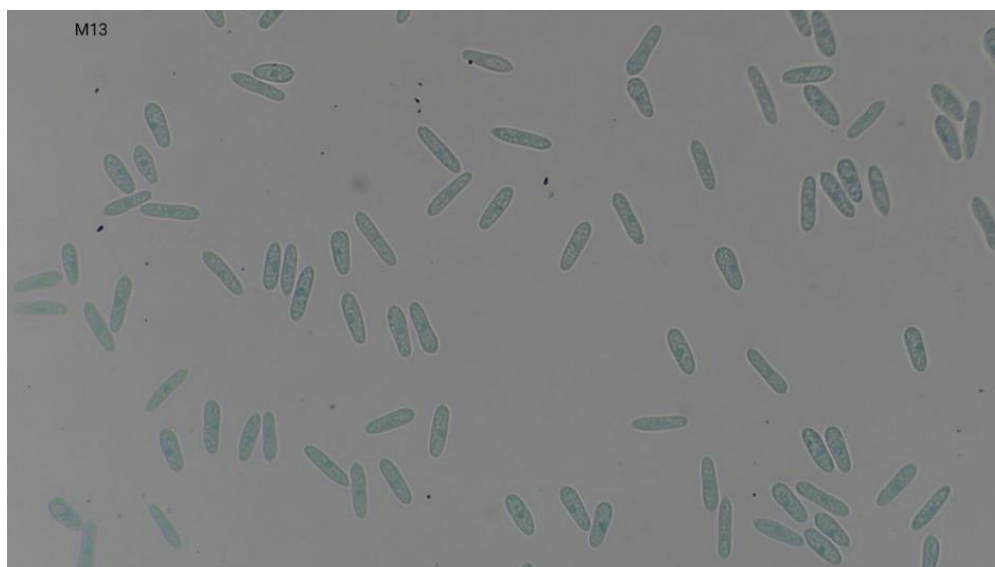
Características macroscópicas y microscópicas del aislamiento M15



Nota. (*) A-B. Placas de cultivo que muestran el crecimiento de la colonia M15, en su vista frontal y reverso. Observación microscópica de las estructuras de M15 con objetivo 40x: C. Conidióforos. D. Dimensiones de los conidios.

Figura 3.44

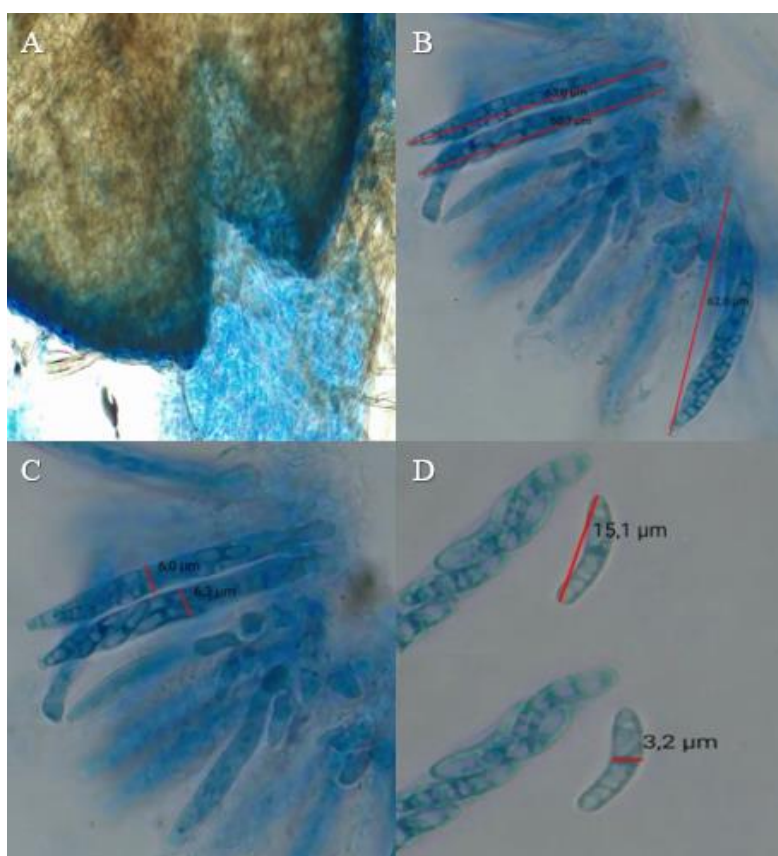
Conidias del aislamiento M15



Nota. (*) Observación microscópica de las conidias de M15 con objetivo 40x.

Figura 3.45

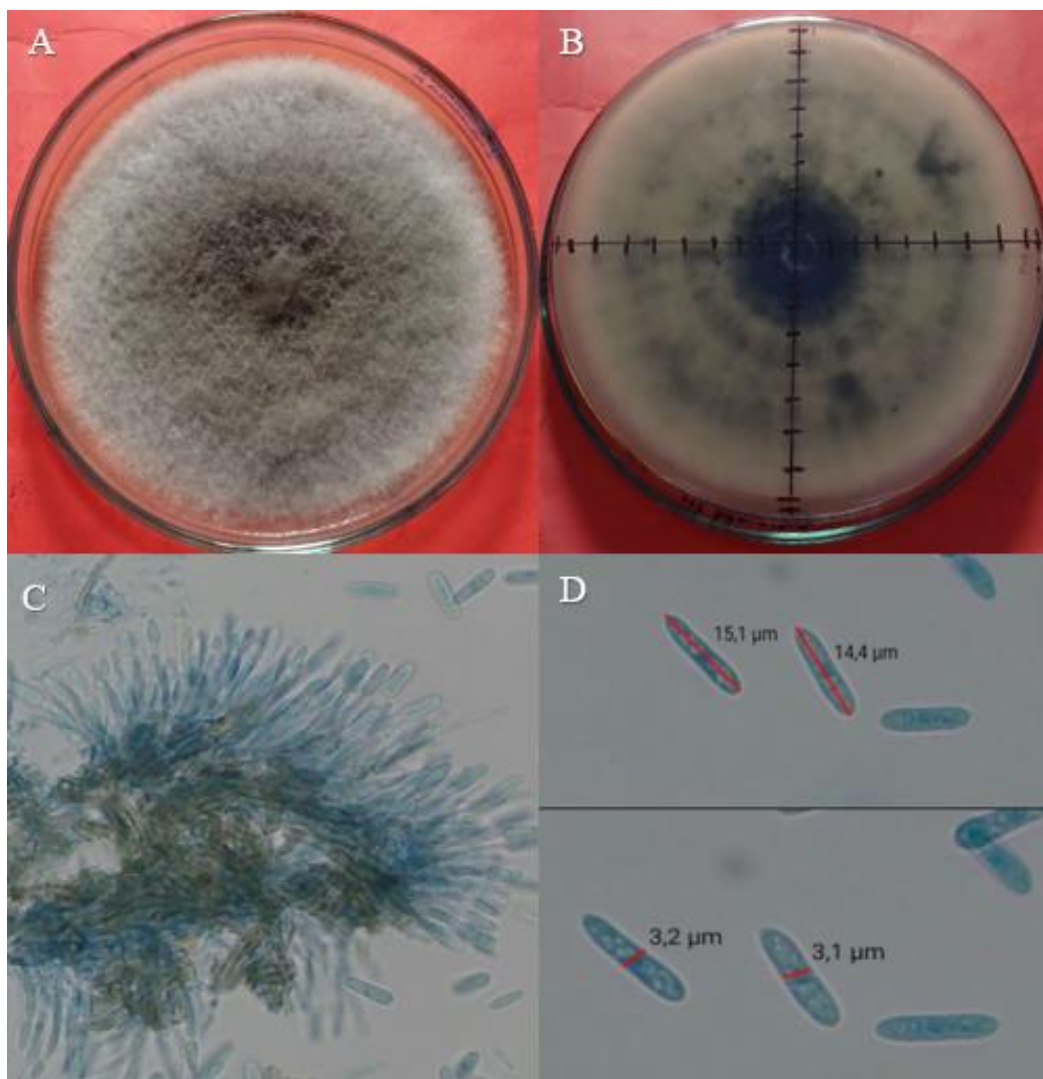
Estructuras sexuales del aislamiento M15



Nota. (*) Observación microscópica de M15 con objetivo 40x. A. Peritecio oscuro liberando ascas. B-C. Dimensiones de las ascas. D. Dimensiones de las ascosporas.

Figura 3.46

Características macroscópicas y microscópicas del aislamiento M16



Nota. (*) A-B. Placas de cultivo que muestran el crecimiento de la colonia M16, en su vista frontal y reverso. Observación microscópica de las estructuras de M16 con objetivo 40x: C. Conidióforos. D. Dimensiones de los conidios.

Figura 3.47

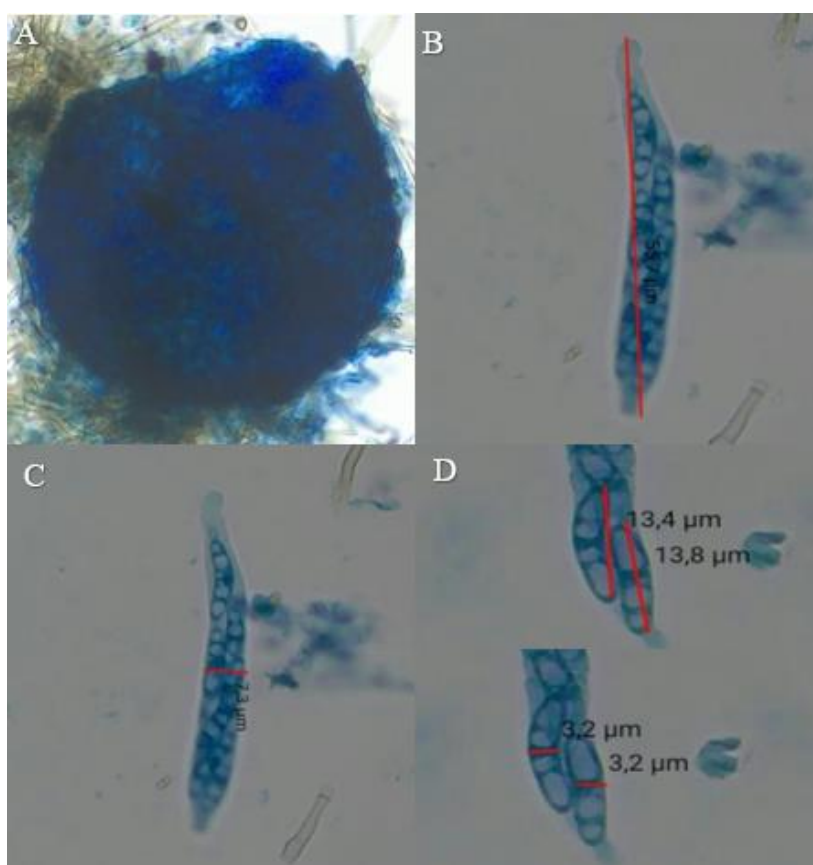
Conidias del aislamiento M16



Nota. (*) Observación microscópica de las conidias de M16 con objetivo 40x.

Figura 3.48

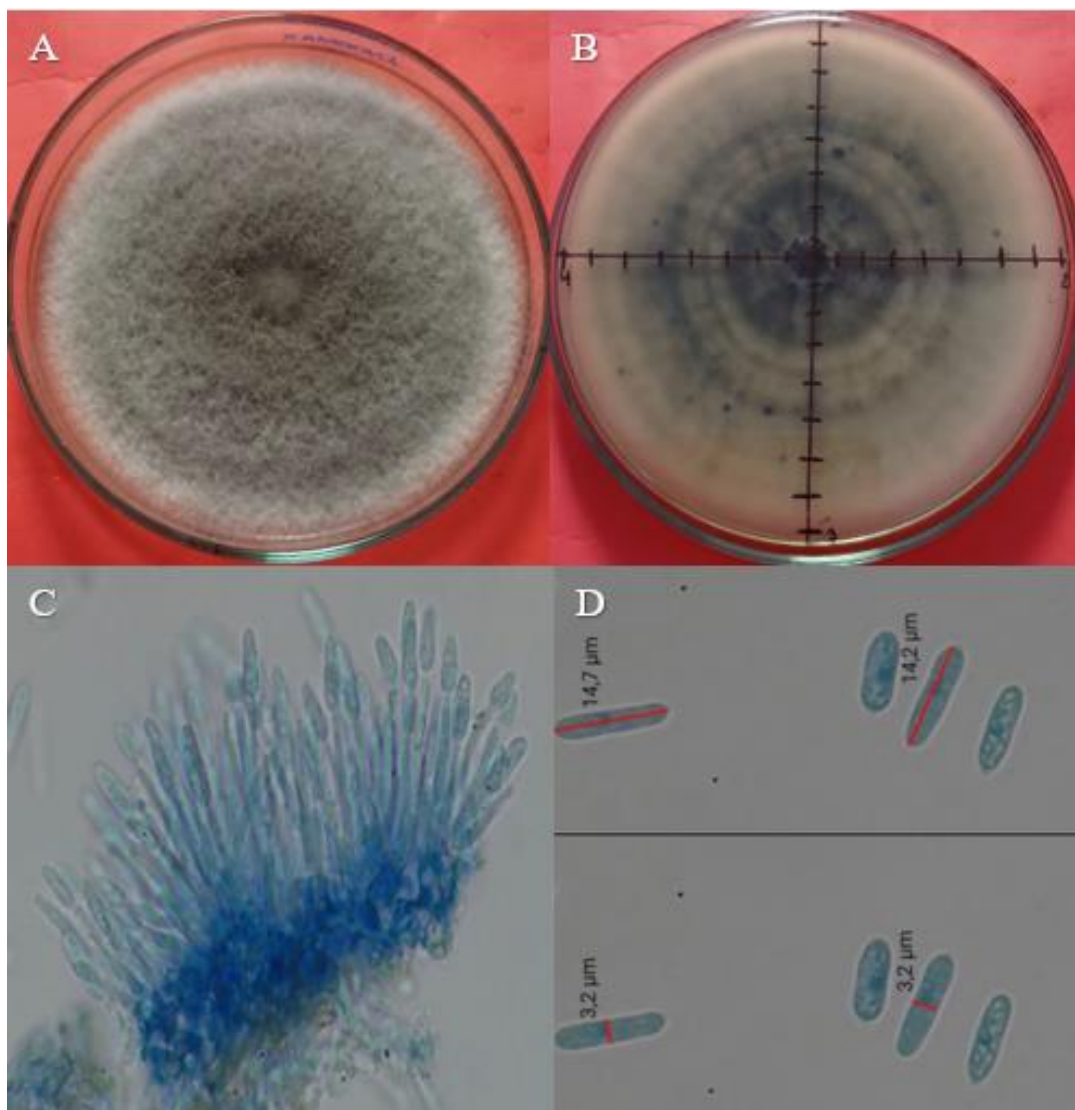
Estructuras sexuales del aislamiento M16



Nota. (*) Observación microscópica de M16 con objetivo 40x. A. Peritecio oscuro. B-C. Dimensiones de las ascas. D. Dimensiones de las ascosporas.

Figura 3.49

Características macroscópicas y microscópicas del aislamiento M20



Nota. (*) A-B. Placas de cultivo que muestran el crecimiento de la colonia M20, en su vista frontal y reverso. Observación microscópica de las estructuras de M20 con objetivo 40x: C. Conidióforos. D. Dimensiones de los conidios.

Figura 3.50

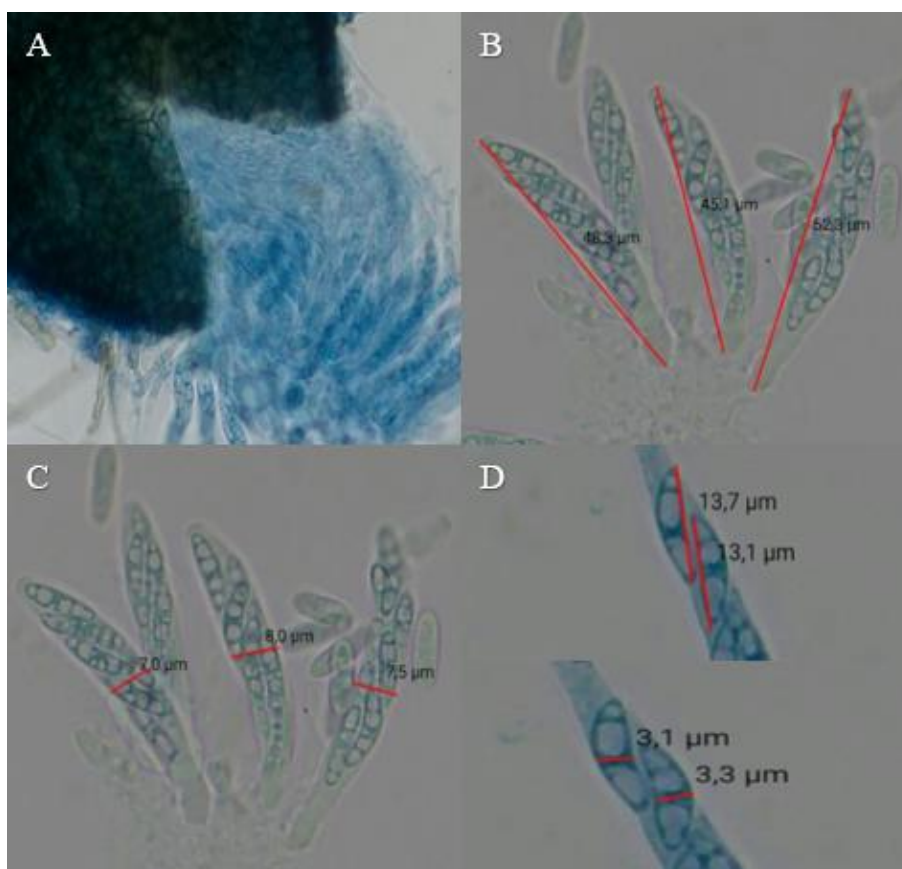
Conidias del aislamiento M20



Nota. (*) Observación microscópica de las conidias de M20 con objetivo 40x.

Figura 3.51

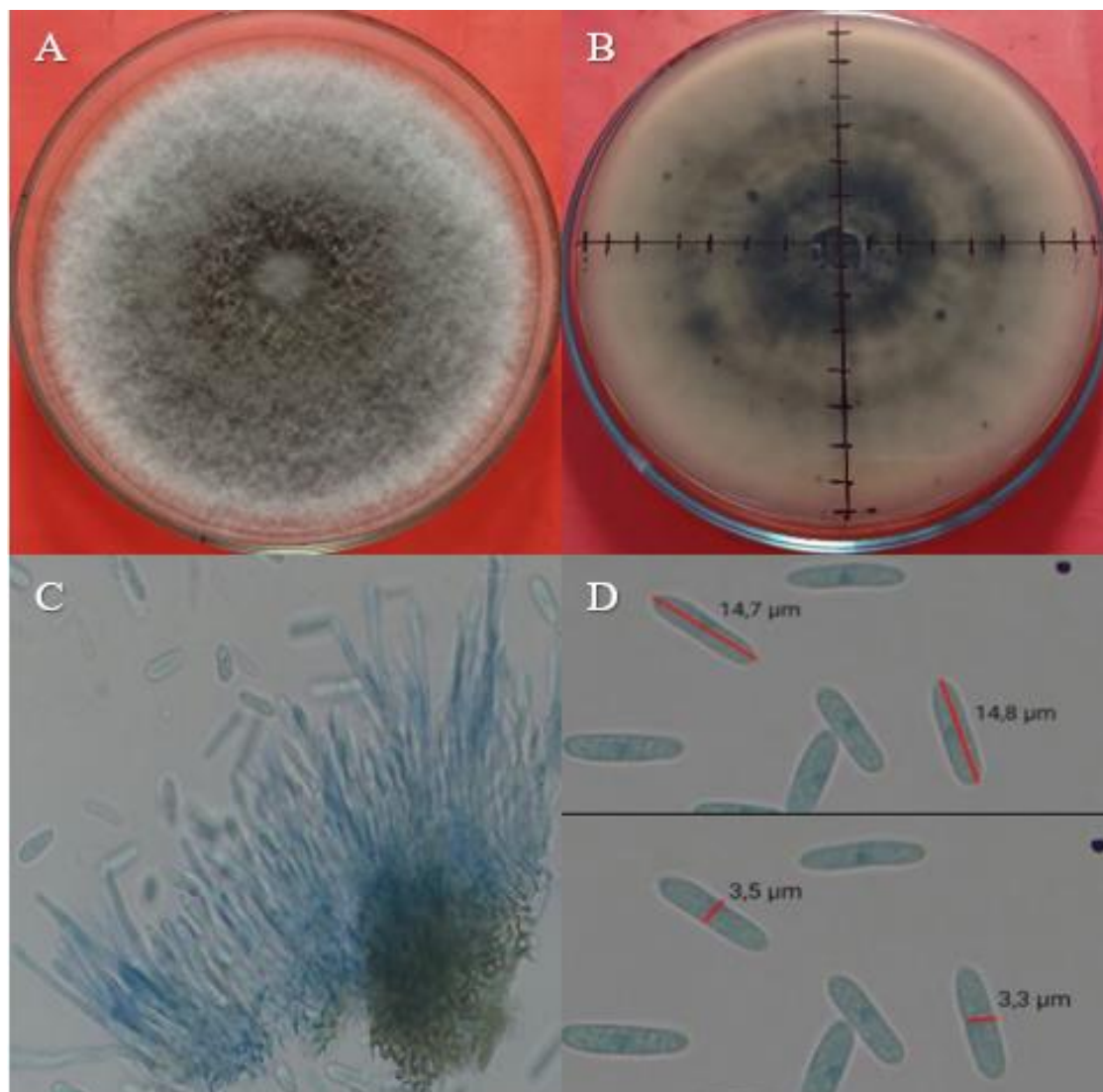
Estructuras sexuales del aislamiento M20



Nota. (*) Observación microscópica de M20 con objetivo 40x. A. Peritecio oscuro liberando ascas. B-C. Dimensiones de las ascas. D. Dimensiones de las ascosporas.

Figura 3.52

Características macroscópicas y microscópicas del aislamiento M21



Nota. (*) A-B. Placas de cultivo que muestran el crecimiento de la colonia M21, en su vista frontal y reverso. Observación microscópica de las estructuras de M21 con objetivo 40x: C. Conidióforos. D. Dimensiones de los conidios.

Figura 3.53

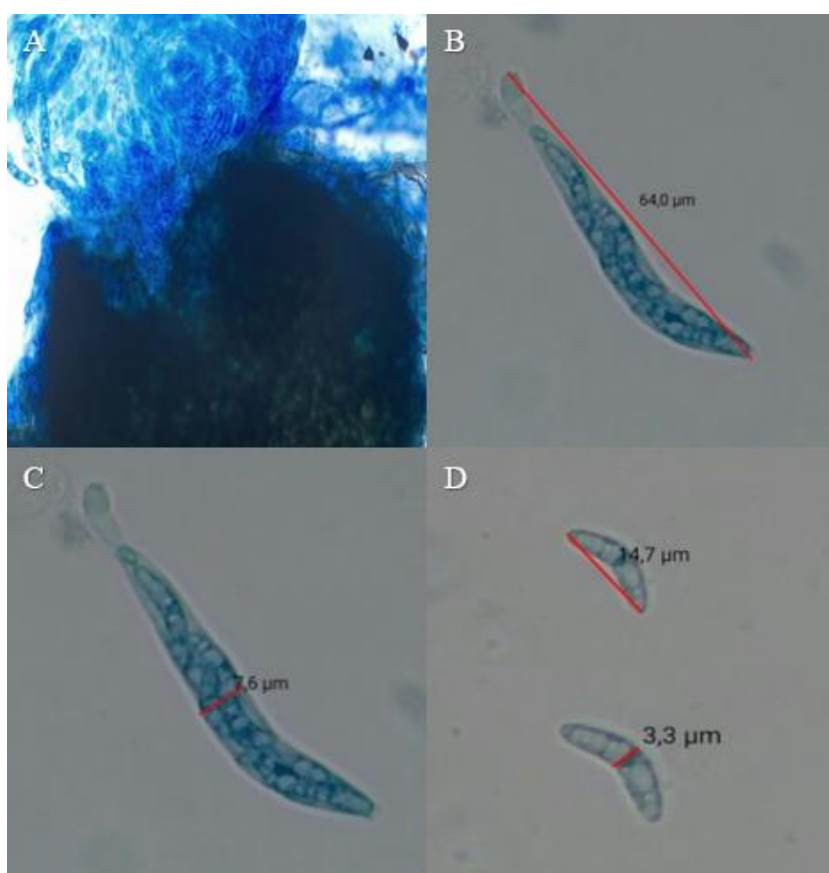
Conidias del aislamiento M21



Nota. (*) Observación microscópica de las conidias de M21 con objetivo 40x.

Figura 3.54

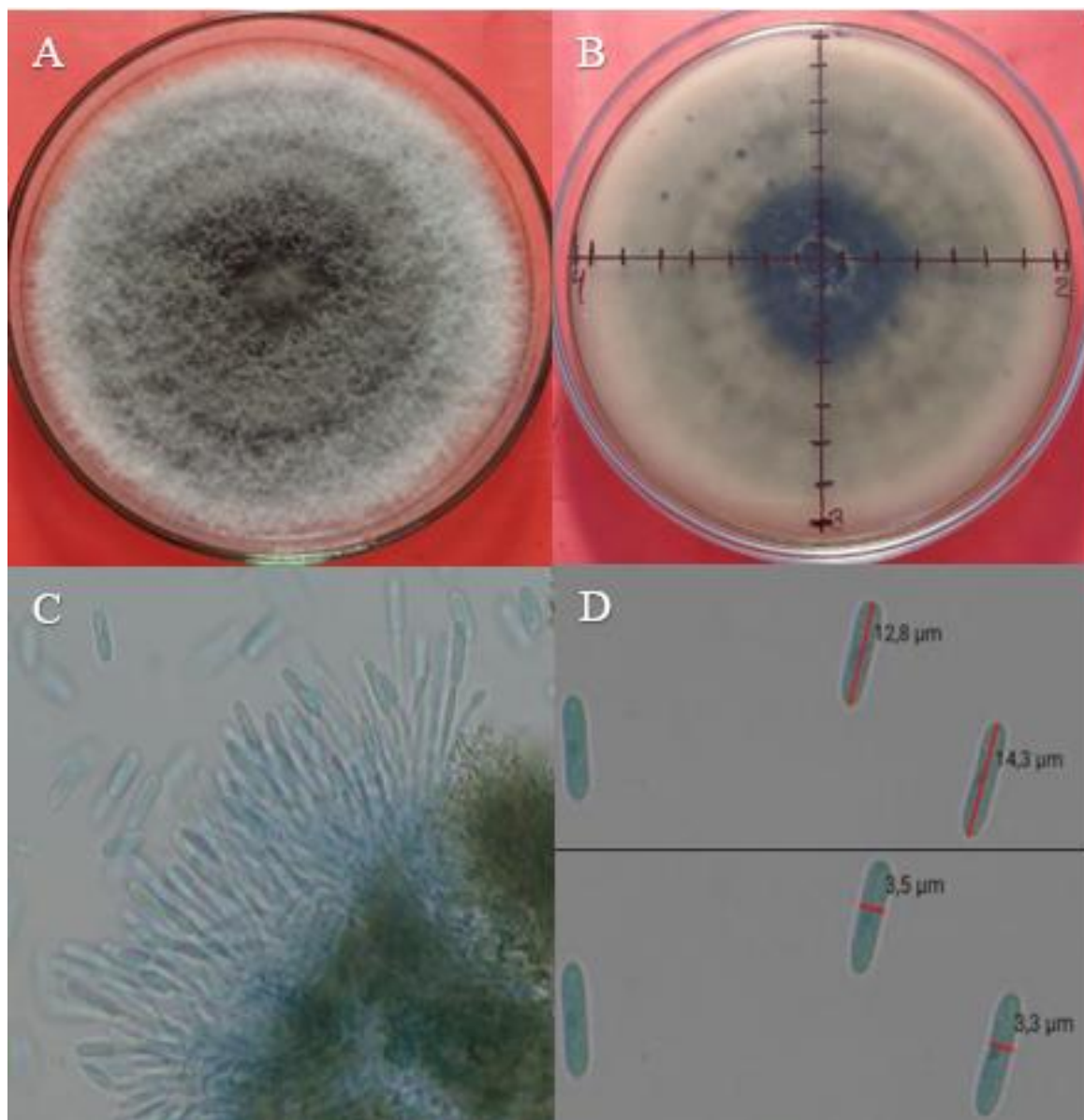
Estructuras sexuales del aislamiento M21



Nota. (*) Observación microscópica de M21 con objetivo 40x. A. Peritecio oscuro liberando ascas. B-C. Dimensiones de las ascas. D. Dimensiones de las ascosporas.

Figura 3.55

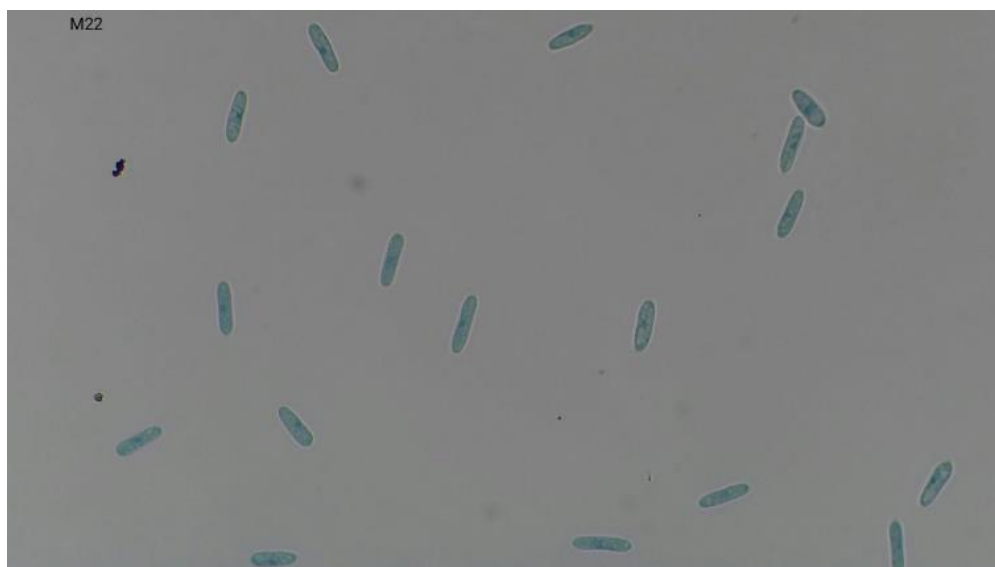
Características macroscópicas y microscópicas del aislamiento M22



Nota. (*) A-B. Placas de cultivo que muestran el crecimiento de la colonia M22, en su vista frontal y reverso. Observación microscópica de las estructuras de M22 con objetivo 40x: C. Conidióforos. D. Dimensiones de los conidios.

Figura 3.56

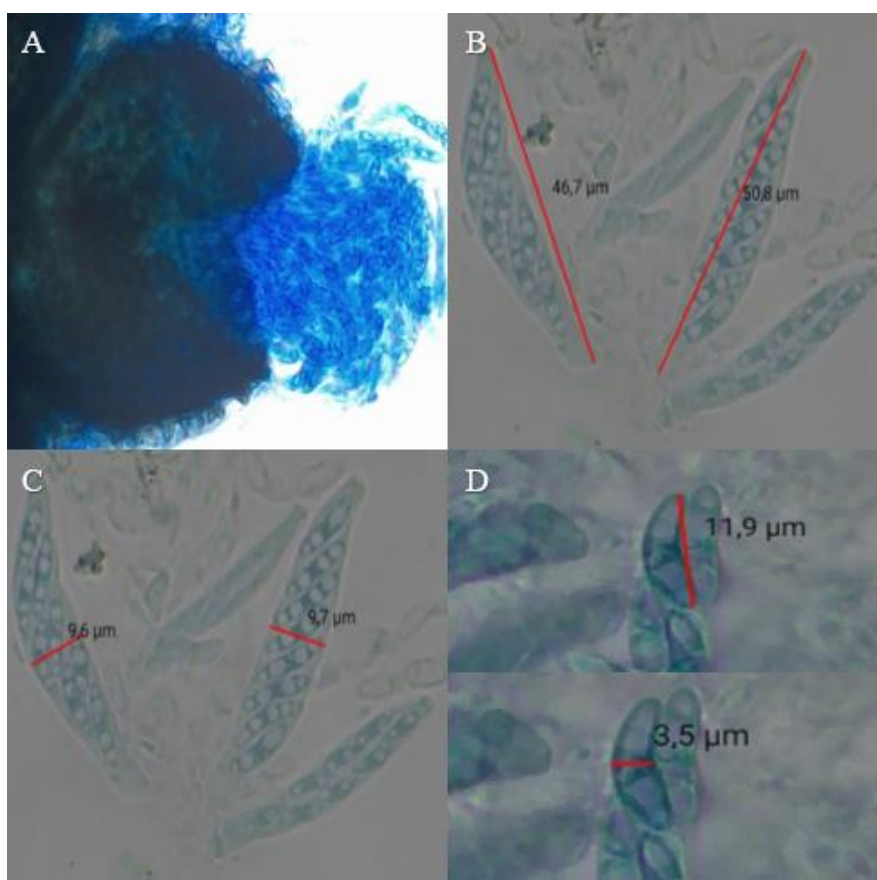
Conidias del aislamiento M22



Nota. (*) Observación microscópica de las conidias de M22 con objetivo 40x.

Figura 3.57

Estructuras sexuales del aislamiento M22



Nota. (*) Observación microscópica de M22 con objetivo 40x. A. Peritecio oscuro liberando ascas. B-C. Dimensiones de las ascas. D. Dimensiones de las ascosporas.

Tabla 3.1*Características cuantitativos y cualitativos de los aislados*

Aislamiento	Tamaño de conidios (µm)	Tasa de crecimiento (cm/día)	Color de la colonia	Tipo de micelio	Forma de conidios
M1	11.76 x 3.2	0.55	Blanco	MA	Cilíndricos-0
M2	11.64 x 3.3	0.55	Blanco	MA	Cilíndricos-0
M3	11.76 x 3.1	0.55	Blanco	MA	Cilíndricos-0
M4	12.30 x 3.3	0.62	Blanco	MA	Cilíndricos-0
M5	11.86 x 3.4	0.63	Blanco	MA	Cilíndricos-0
M6	11.81 x 3.2	0.61	Blanco	MA	Cilíndricos-0
M7	12.12 x 3.2	0.63	Blanco	MA	Cilíndricos-0
M8	12.31 x 3.1	0.62	Blanco	MA	Cilíndricos-0
M9	12.57 x 3.4	0.63	Blanco	MA	Cilíndricos-0
M10	12.20 x 3.5	0.62	Blanco	MA	Cilíndricos-0
M11	9.24 x 2.5	0.35	Blanco- Gris	MA	Fusiformes
M12	9.67 x 2.5	0.34	Blanco- Gris	MA	Fusiformes
M13	9.37 x 2.6	0.33	Blanco- Gris	MA	Fusiformes
M14	14.38 x 2.9	0.59	Verde grisáceo	AA	Cilíndricos-0
M15	14.60 x 3.3	0.60	Verde grisáceo	AA	Cilíndricos-0
M16	14.58 x 3.2	0.59	Verde grisáceo	AA	Cilíndricos-0
M17	10.16 x 2.7	0.33	Blanco- Gris	MA	Fusiformes
M18	9.70 x 2.5	0.35	Blanco- Gris	MA	Fusiformes
M19	9.59 x 2.5	0.35	Blanco- Gris	MA	Fusiformes
M20	14.64 x 3.2	0.62	Verde grisáceo	AA	Cilíndricos-0
M21	15.03 x 3.3	0.63	Verde grisáceo	AA	Cilíndricos-0
M22	14.66 x 3.3	0.61	Verde grisáceo	AA	Cilíndricos-0
M23	12.90 x 3.0	0.55	Blanco	MA	Cilíndricos-0
M24	13.42 x 3.2	0.55	Blanco	MA	Cilíndricos-0
M25	12.02 x 3.1	0.55	Blanco	MA	Cilíndricos-0

Nota. (*) M.A. Moderadamente algodonoso. AA. Abundantemente algodonoso. 0. Conidios con los dos extremos redondeados (Álvarez & Tenesaca, 2022).

Tabla 3.2*Caracterización del estado teleomorfo de los aislamientos del grupo IV*

Aislamiento	Tamaño de ascas (µm)	Tamaño de ascosporas (µm)
M14	44.58 x 6.1	13.20 x 3.5
M15	56.59 x 6.9	13.50 x 3.3
M16	51.86 x 7.0	13.23 x 3.2
M20	49.62 x 7.2	12.85 x 3.2
M21	50.53 x 7.5	13.27 x 3.3
M22	50.48 x 7.5	12.94 x 3.3

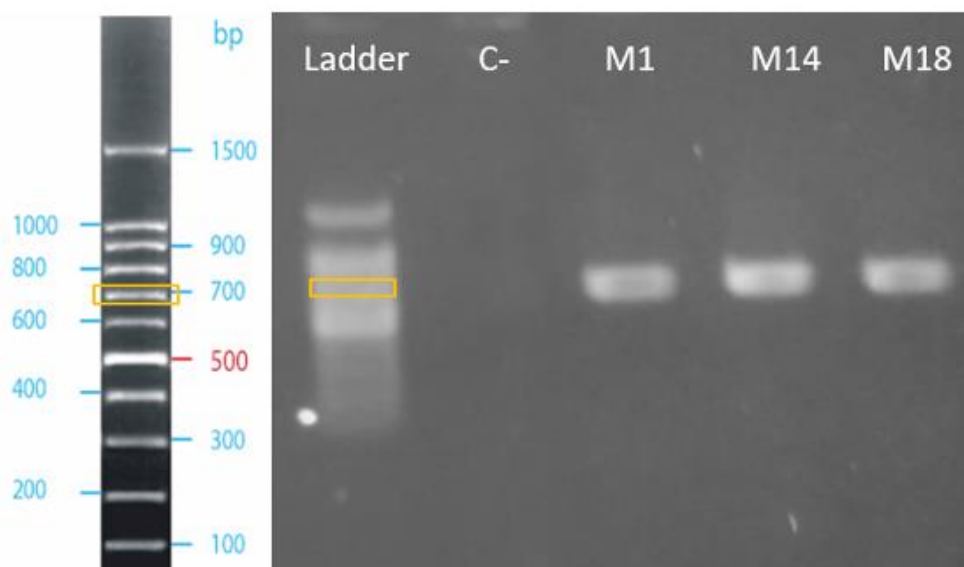
3.3 Identificación molecular del género y especie

Revelado de gel de electroforesis

El ADN extraído de los aislamientos de *Colletotrichum* (M1, M14 y M18) fue amplificado mediante PCR utilizando cebadores específicos para la región ITS (ITS1- ITS4). Los productos amplificados fueron visualizados mediante electroforesis en gel de agarosa al 1,5 % utilizando buffer TAE.

Figura 3.58

Electroforesis en gel de agarosa al 1,5 % de productos amplificados por PCR del gen ITS en aislamientos de Colletotrichum (M1, M14 y M18)



Nota. (*) En la figura se observa el marcador de peso molecular (Ladder) con fragmentos de referencia en pares de bases (bp). Las bandas principales en las muestras M1, M14 y M18 se encuentran alrededor de los 700 pb, correspondiente al tamaño esperado del fragmento amplificado. El control negativo (C-) no presenta bandas visibles, lo que indica ausencia de contaminación.

Como se muestra en la Figura 3.58, las muestras M1, M14 y M18 presentan bandas claras y definidas alrededor de 700 pares de bases, correspondientes al tamaño esperado del fragmento ITS. El control negativo (C-) no mostró amplificación, lo que confirma la especificidad de la reacción y la ausencia de contaminación.

Análisis por BLAST de las secuencias

Las secuencias de consenso obtenidas de los aislamientos M1, M14 y M18 se presentan en las Figuras 3.59, 3.60 y 3.61, respectivamente. Cada secuencia fue comparada con la base

de datos NCBI mediante BLASTn para evaluar la similitud con secuencias reportadas y determinar la identidad molecular de los aislamientos.

Figura 3.59

Secuencia de consenso del aislamiento M1

```
>M1
AGGGATCATTACTGAGTTTACGCTCTATAACCCTTTGTGAACATACCTATAACTG
TTGTTTCGGCGGGTAGGGTCTCCGTGACCCTCCCCGGCCTCCCGCCCCCGG
GCGGGTTCGGCGCCCCGCCGGAGGATAACCAAACCTCTGATTTAACGACGTTTCT
TTTGAGTGGTACAAGCAAATAATCAAACTTTTAACAACGGATCTCTTGTTCT
GGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATT
CATTGAATCATTTAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCGCCAGCATTCTGGCGG
GCATGCCTGTTGAGAGTCATTCAACCCTCAAGCTCTGCTTGGTGTGTTGGGGC
CCTACAGCTGATGTAGGCCCTCAAAGGTAGTGGCGGACCCTCCCGGAGCCTC
CTTTGCGTAGTAACCTTACGTCTCGCASTGGGATCCGGAGGGACTCTTGCCGT
AAAACCCCCCTTTTTT
```

Figura 3.60

Secuencia de consenso del aislamiento M14

```
>M14
TGTTGCTTCTTGCGGGTAGGGTCTCCGCGACCCTCCCGGCCTCCCGCCTCCG
GGCGGGTTCGGCGCCCCGCCGGAGGATAACCAAACCTCTGATTTAACGACGTTTCT
TTCTGAGTGGTACAAGCAAATAATCAAACTTTTAACAACGGATCTCTTGTTCT
TGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATT
CAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCGCCAGCATTCTGGCGG
GCATGCCTGTTGAGCGTCATTTCAACCCTCAAGCTCTGCTTGGTGTGTTGGGG
CCCTACAGCTGATGTAGGCCCTCAAAGGTAGTGGCGGACCCTCCCGGAGCCTC
CCTTTGCGTAGTAACCTTACGTCTCGCACTGGGATCCGGAAGGACTCTTGCCG
TAAACCCCCCAATTTTCAAAGGTTGACCTCGGATCAGGTAGGAATACCCGC
TGAACCTAAGCATATCATTAAGGCGGGAAGGAAAA
```

Figura 3.61

Secuencia de consenso del aislamiento M18

```
>M18
TCTCCGTGACCCTCCCGGCCTCCCGCCCCCGGGCGGGTTCGGCGCCCCGCCG
GAGGATAACCAAACCTCTGATTTAACGACGTTTCTTCTGAGTGGTACAAGCAAAT
AATCAAACTTTTAACAACGGATCTCTTGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAG
CGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCGAATTGAGTGAATCATCGAATCTTTGA
ACGCACATTGCGCCCGCCAGCATTCTGGCGGGCATGCCTGTTGAGCGTCAT
TTCAACCCTCAAGCTCTGCTTGGTGTGTTGGGGCCCTACAGCTGATGTAGGCCCT
CAAAGGTAGTGGCGGACCCTCCCGGAGCCTCCTTTGCGTAGTAACCTTACGTC
TCGCACTGGGATCCGGAGGGACTCTTGCCGTAAAACCCCCCAATTTTCCAAA
GGTTGACCTCGGATCAGGTAGGAATACCCGCTGAACTTAAGCATATCAATAAGC
CGGAGGA
```

Resultados del análisis por BLAST

La comparación de las secuencias obtenidas de las muestras M1, M14 y M18 con la base de datos del NCBI, analizada mediante el programa BLAST, evidenció alta similitud con diversas especies del género *Colletotrichum* (Tablas 3.3, 3.4 y 3.5). En todos los casos, los valores de *E-value* fueron iguales a 0.0, lo que indica alineamientos altamente significativos y de elevada confiabilidad.

La muestra M1 presentó un 98 % de identidad con varias especies del género *Colletotrichum*, incluyendo *C. alienum*, *C. aenigma*, *C. perseae* y *C. salsolae*. Los valores de puntuación total (Total Score) oscilaron entre 848 y 854, siendo la coincidencia con el mayor Total Score (854) al 98.35 % de identidad correspondiente a *Colletotrichum alienum*.

La muestra M14 presentó un 99 % de identidad con especies como *C. aeshynomenes*, *C. chrysophilum*, *C. fruticola* y *C. gloeosporioides*. Los valores de Total Score oscilaron entre 767 y 891, siendo la coincidencia con el mayor Total Score (891) al 99.39 % de identidad correspondiente a *Colletotrichum aeshynomenes*.

La muestra M18 presentó un 100 % de identidad con especies como *C. alienum*, *C. perseae*, *C. pandanicola* y *C. makassarensis*. Los valores de Total Score oscilaron entre 760 y 876, siendo la coincidencia con el mayor Total Score (876) al 100 % de identidad correspondiente a *Colletotrichum alienum*.

Estos resultados confirman la pertenencia de las muestras M1, M14 y M18 al género *Colletotrichum* y evidencian una alta similitud genética con varias especies estrechamente relacionadas. No obstante, la identificación específica a nivel de especie podría requerir análisis moleculares adicionales con marcadores más discriminantes o estudios filogenéticos complementarios.

Tabla 3.3*Tabla de alineaciones significantes de la muestra M1*

Nombre científico	Total Score	E value	%identidad	Número de accesoión
<i>Colletotrichum alienum</i>	854	0.0	98.35 %	NR_120141.1
<i>Colletotrichum aenigma</i>	852	0.0	98.35 %	NR_120140.1
<i>Colletotrichum perseae</i>	848	0.0	98.15 %	NR_160822.1
<i>Colletotrichum salsolae</i>	848	0.0	98.15 %	NR_120139.1

Tabla 3.4*Tabla de alineaciones significantes de la muestra M14*

Nombre científico	Total Score	E value	%identidad	Número de accesoión
<i>Colletotrichum aeshynomenes</i>	891	0.0	99.39 %	NR_120133.1
<i>Colletotrichum chrysophilum</i>	874	0.0	99.38 %	NR_160821.1
<i>Colletotrichum fructicola</i>	767	0.0	99.29 %	NR_144783.1
<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	885	0.0	99.19 %	NR_160754.1

Tabla 3.5*Tabla de alineaciones significantes de la muestra M18*

Nombre científico	Total Score	E value	%identidad	Número de accesoión
<i>Colletotrichum alienum</i>	876	0.0	100.00 %	NR_120141.1
<i>Colletotrichum perseae</i>	869	0.0	100.00 %	NR_160822.1
<i>Colletotrichum pandanicola</i>	846	0.0	100.00 %	NR_160838.1
<i>Colletotrichum makassarensense</i>	760	0.0	100.00 %	NR_171184.1

Villanueva et al. (2008) Señalaron que, utilizando los iniciadores universales ITS1 e ITS4, lograron identificar molecularmente a *C. gloeosporioides* con un porcentaje de similitud del 100 %, y a *C. orbiculare* y *C. Fragariae* con 99.8 %. De manera similar, Xavier (2018) indicó que, mediante los mismos marcadores (ITS1 e ITS4), identificó molecularmente a *C. gloeosporioides*. Por su parte, Fan et al. (2025) emplearon varios marcadores moleculares, entre ellos la región ITS (amplificada con ITS1 e ITS4) para la identificación de *C. fructicola*,

Estos antecedentes coinciden con los resultados obtenidos en el presente estudio, donde el uso del marcador ITS permitió confirmar la pertenencia de los aislados al género *Colletotrichum* con altos valores de identidad en el análisis BLAST.

Estos resultados constituyen el primer registro de especies del género *Colletotrichum* asociadas a la antracnosis en frutos de anona en el distrito de Kimbiri, aportando información relevante para el manejo fitosanitario de este cultivo.

3.4 Prueba de patogenicidad

Los cuatro grupos de aislamientos de *Colletotrichum* resultaron patogénicos, al reproducir los síntomas característicos de la enfermedad en frutos verdes y maduros cinco días después de la inoculación. En los puntos de infección se observaron lesiones necróticas asociadas con pudrición y hundimiento del tejido, acompañadas de micelio blanco y masas conidiales de color salmón y naranja. Las lesiones progresaron hasta alcanzar la pulpa tanto en frutos verdes como en maduros y mostraron un patrón de avance en forma circular. Mientras que los frutos testigo, tanto verdes como maduros, permanecieron asintomáticos. Se registró una incidencia del 100 %, lo que evidenció la presencia del patógeno en todas las muestras analizadas.

De manera similar, Villanueva et al. (2008) reportaron que especies de *Colletotrichum* ocasionaron lesiones necróticas circulares o irregulares, caracterizadas por tejido deprimido y acumulación de conidios con tonalidades salmón a anaranjadas en frutos de chirimoya, observadas diez días después de la inoculación. En algunos frutos, las lesiones se extendieron hasta la pulpa.

Por su parte, Álvarez y Tenesaca (2022) observaron que los frutos de chirimoya desarrollaron lesiones necróticas de color marrón oscuro desde el quinto día posterior a la inoculación.

De igual forma, Fan et al. (2025) observaron que los síntomas de antracnosis se desarrollaron en frutos de *Annona squamosa* cinco días después de la inoculación, mientras que Salinas et al. (2020) reportaron la aparición de síntomas similares en frutos de *Annona scleroderma* siete días después de la inoculación.

Figura 3.62

Presencia de esporulación de tono salmón y naranja en los puntos de infección de frutos de anona

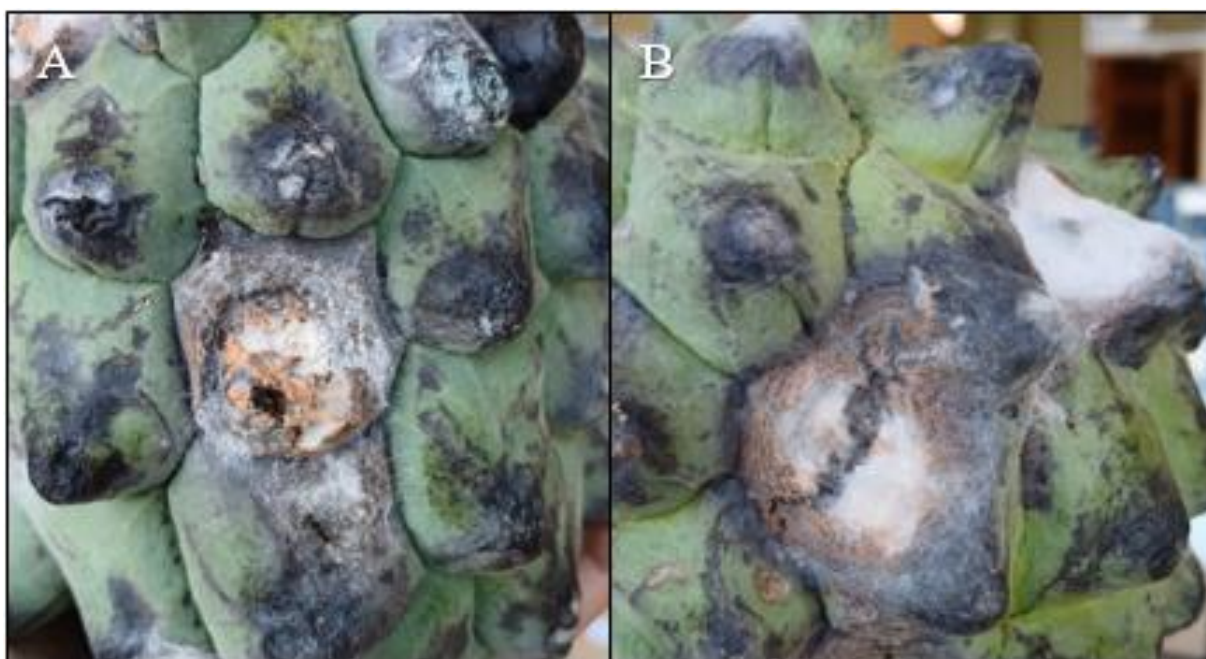


Figura 3.63

Lesiones necróticas circulares en los puntos de infección de frutos verdes de anona



Nota. (*) Lesiones provocadas por los diferentes grupos de aislamientos, 12 días después de la inoculación. A. Grupo I. B. Grupo II. C. Grupo III. D. Grupo IV.

Figura 3.64

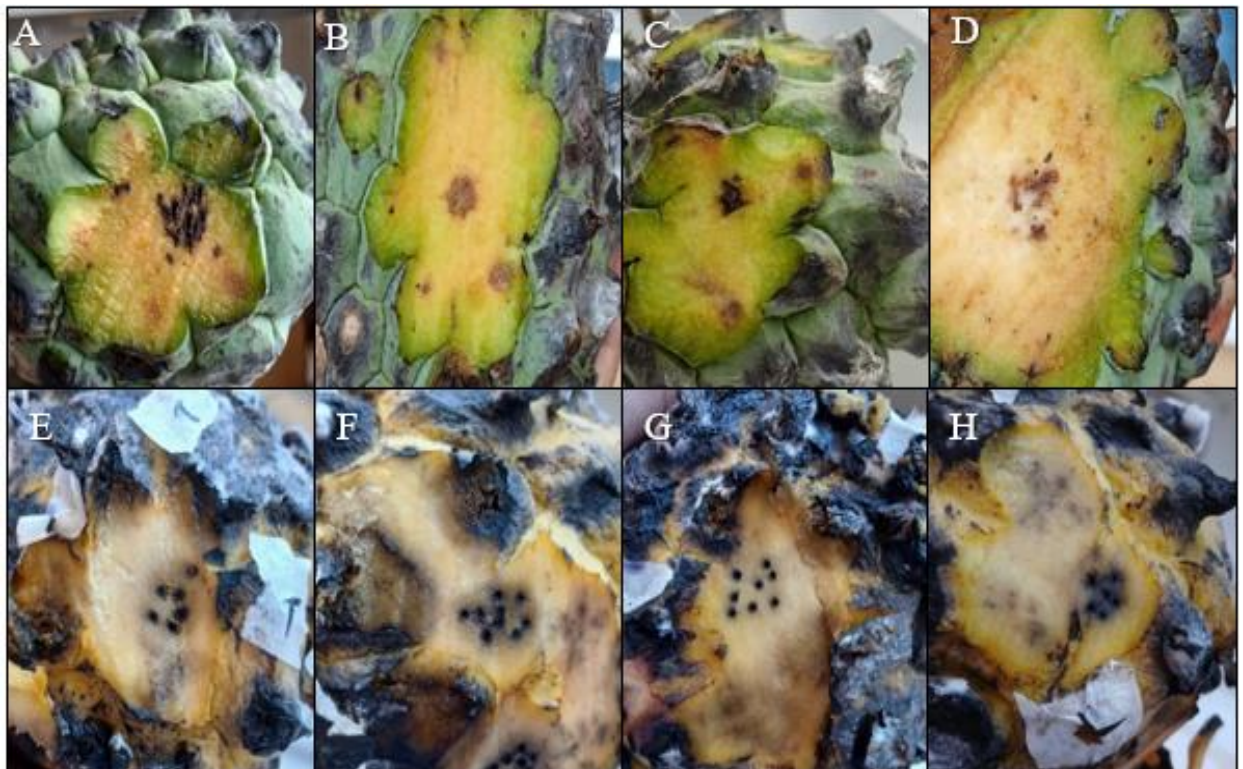
Lesiones necróticas circulares en los puntos de infección de frutos maduros de anona



Nota. (*) Lesiones provocadas por los diferentes grupos de aislamientos, 7 días después de la inoculación. A. Grupo I. B. Grupo II. C. Grupo III. D. Grupo IV.

Figura 3.65

Frutos testigo verdes y maduros asintomáticos



Nota. (*) Frutos verdes testigo asintomáticos: (A) Grupo I, (B) Grupo II, (C) Grupo III, (D) Grupo IV. Frutos maduros testigo asintomáticos: (E) Grupo I, (F) Grupo II, (G) Grupo III, (H) Grupo IV.

Tabla 3.6

Incidencia de antracnosis en frutos verdes y maduros de anona inoculados con diferentes aislamientos de Colletotrichum

Tipo de fruto	Aislamientos	Frutos inoculados	Puntos de inoculación totales	Puntos con síntomas	Incidencia (%)
Verde	Grupo I	2	10	10	100
Verde	Grupo II	2	10	10	100
Verde	Grupo III	2	10	10	100
Verde	Grupo IV	2	10	10	100
Maduro	Grupo I	2	10	10	100
Maduro	Grupo II	2	10	10	100
Maduro	Grupo III	2	10	10	100
Maduro	Grupo IV	2	10	10	100

CONCLUSIONES

1. Se obtuvieron 25 aislamientos del agente causal de la antracnosis en frutos de anona (*Rollinia mucosa* (Jacq.) Baill.).
2. Los aislamientos obtenidos presentaron características morfológicas compatibles con el género *Colletotrichum*, identificado en este estudio como el agente causal de la antracnosis en frutos de anona procedentes del distrito de Kimbiri, Cusco.
3. La identificación molecular, empleando el marcador ITS, permitió confirmar la pertenencia de los aislamientos M1 a *Colletotrichum alienum* (98.35 % de identidad), M14 a *Colletotrichum aeshynomenes* (99.39 %) y M18 a *Colletotrichum alienum* (100 %), evidenciando altos niveles de similitud con las secuencias de referencia.
4. Los aislamientos de *Colletotrichum* demostraron ser patogénicos al reproducir los síntomas característicos de antracnosis en frutos verdes y maduros de anona, cinco días después de la inoculación.

RECOMENDACIONES

1. Realizar estudios complementarios de caracterización molecular con otros marcadores genéticos (por ejemplo, GAPDH, ACT, β -tubulina o CAL) para confirmar la identidad a nivel de especie y analizar la diversidad genética de los aislamientos de *Colletotrichum*.
2. Se debe dar mayor importancia al cultivo de anona, considerando las múltiples bondades de esta fruta. Por ello, se recomienda realizar más trabajos de investigación enfocados en el manejo y control de sus enfermedades.
3. La prueba de patogenicidad debe efectuarse en frutos en estado de madurez parcial, es decir, no completamente maduros, ya que los frutos maduros son altamente perecibles, lo que dificulta la realización del procedimiento experimental.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Agrios, G. (2020). *Fitopatología* (2a ed). Limusa.
- Álvarez, E., Gañán, L., Rojas, A., Mejía, F., Llano, A., & González, A. (2014). Diversity and pathogenicity of *Colletotrichum* species isolated from soursop in Colombia. *European Journal of Plant Pathology*, 139(2), 325-338. <https://doi.org/10.1007/s10658-014-0388-7>
- Álvarez, M., & Tenesaca, D. (2022). *Determinación del agente causal de la antracnosis en Annona cherimola (chirimoya) en el cantón Gualaceo provincia del Azuay* [bachelorThesis, Universidad de Cuenca]. <https://dspace.ucuenca.edu.ec/handle/123456789/38954>
- Apaza, M., & Salazar, D. (2019). Caracterización morfológica de ecotipos de guanábana (*Annona muricata* L.) en el distrito de Perené-Chanchamayo. *Universidad Nacional Daniel Alcides Carrión*. <http://repositorio.undac.edu.pe/handle/undac/1501>
- Alejos, L., Aragón, M., & Cornejo, A. (2015). Extracción y purificación de ADN. In A. Cornejo, A. Serrato, & B. Rendon (Eds.), *Herramientas Moleculares Aplicadas en Ecología* (Vol. 36, pp. 1–3). https://www.researchgate.net/publication/280731680_Microsatelites
- Barquero, M., Peres, N., & Arauz, L. (2013). Presencia de *Colletotrichum acutatum* y *Colletotrichum gloeosporioides* en helecho hoja de cuero, limón criollo, papaya, carambola y mango en Costa rica y Florida (Estados Unidos). *Agronomía Costarricense*, 37(1), 23-38.
- Barnett, H., & Hunter, B. (1998). *Illustrated genera of imperfect fungi*. Fourth Edition. APS Press. Minesota, USA. 197p.
- Betancourt, A. (2019). *Agente causal de antracnosis en inflorescencias de guanábana (Annona muricata L.) en nayarit, México y alternativas de control in vitro*. <http://dspace.uan.mx:8080/xmlui/handle/123456789/2310>
- Borges, M. (2019). *Ciência e Tecnologia dos Alimentos Volume 1*. 10.5935. <https://doi.org/10.5935/978-85-7042-123-4>
- Cerón, R., Laura, E., Higuera, M., Blanca L., Sánchez N., Bustamante, S., & Buitrago, G. (2006). Crecimiento y desarrollo de *Colletotrichum gloeosporioides* f. *alatae* durante su cultivo en medios líquidos. *Acta Biológica Colombiana*, 11 (1), 99 109

- Camero, C. (2018). *Agentes causales de la pudrición de fruto de guanábana (Annona muricata L.) en nayarit, México y su control biológico in vitro*. <http://dspace.uan.mx:8080/xmlui/handle/123456789/2311>
- Castelo, E. (2024). Elaboração de iogurte de leite de búfala com geleia de biribá (*Rollinia mucosa*) e chia para alimentação de idosos. *Revista foco*, 17(6), e5445-e5445. <https://doi.org/10.54751/revistafoco.v17n6-118>
- Damm, U., Baroncelli, R., Cai, L., Kubo, Y., O'Connell, R., Weir, B., Yoshino, K., & Cannon, P. (2010). *Colletotrichum*: Species, ecology and interactions. *IMA Fungus*, 1(2), 161-165. <https://doi.org/10.5598/ima fungus.2010.01.02.08>
- Dean, R., Van Kan, L., Pretorius, A., Hammond, E., Di Pietro, A., Spanu, D., Rudd, J., Dickman, M., Kahmann, R., Ellis, J., & Foster, G. (2012). The Top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology. *Molecular Plant Pathology*, 13(4), 414-430. <https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2011.00783.x>
- Diz, O. (2020). Técnicas de biología molecular en el diagnóstico de enfermedades infecciosas. NPunto.
- Estrada, R. (2011). *Metabolitos secundarios aislados de algunas especies del género Annona como fuente de potenciales fármacos*. <https://repositorio.unicach.mx/handle/20.500.12753/1577>
- Fan, L., Wang, Y., Jiang, E., Yin, S., Yang, Q., Xu, Y., Lu, C., Tan, J., Wei, R., Fu, C., Jiang, T., & Fan, L. (2025). First Report of Anthracnose on *Annona squamosa* Caused by *Colletotrichum fructicola* in China. *Plant Disease*, 109(4), 935. <https://doi.org/10.1094/PDIS-09-24-1967-PDN>
- Freire, R., Arias, A., Mendez, J. & Insua, A. (2010). Sequence variation of the internal transcribed spacer (ITS) region of ribosomal DNA in Cerastoderma species (Bivalvia: Cardiidae). *Journal of Molluscan Studies*, 76(1), 77–86. <https://doi.org/10.1093/mollus/eyp047>
- Flores, S. (1997). *Cultivo de frutales nativos amazónicos: Manual del extensionista*. Tratado de Cooperación Amazónica, Secretaría Pro Tempore. <https://www.semanticscholar.org/paper/Cultivo-de-frutales-nativos-amaz%C3%B3nicos-%3A-manual-del-Payt%C3%A1n/6e7e63493ec4a5a1270738f33826c84f0d348b2b>
- Granda, J. (2025). *Evaluación de las características fisicoquímicas y organolépticas de un néctar a base de Annona (Rollinia Mucosa) endulzado con stevia*.

- Gonzáles, A. (2007). *Frutales nativos amazónicos: Patrimonio alimenticio de la humanidad. En Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana*. Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana. <https://repositorio.iiap.gob.pe/handle/20.500.12921/278>
- Gutsche, A., Smith, N., & Wust, W. (2008). *Frutas amazónicas, postres peruanos de vanguardia*. Ministerio de Comercio Exterior y Turismo. <https://repositorio.iiap.gob.pe/handle/20.500.12921/137>
- Hernandez, C. (2024). *Identificação de espécies de colletotrichum associadas à antracnose em anonáceas e avaliação de estratégias de manejo*. <http://www.repositorio.ufal.br/jspui/handle/123456789/16949>
- Hilario, Y. (2019). Control biológico de antracnosis (*Colletotrichum* spp.) en tres ecotipos de guanábana (*Annona muricata* L.) en condiciones de vivero en la provincia de Chanchamayo. *Revista Científica Altoandina de Ciencias Agrarias*, 1(1), 36-42.
- Hyde KD, Cai L, McKenzie EHC, Yang YL, Zhang JZ and Prihastuti H. (2009b). *Colletotrichum: a catalogue of confusion*. *Fungal Diversity* 39:1-17. Disponible en línea: <http://www.fungaldiversity.org/fdp/sfdp/FD39-1-E.pdf>
- Instituto De Investigaciones Amazónicas (INIAM). (2020). *Fichas tecnicas catalogo de frutas amazonicas*. INIAM.
- Janick, J., & Paull, R. (2008). *The Encyclopedia of Fruit and Nuts*. CABI.
- Kamei, S., Costa, J., Netto, M., Assunção, I., & Lima, G. (2014). Identificação e caracterização de espécies de *Colletotrichum* associadas à antracnose de anonáceas no estado de Alagoas. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 36, 209-216. <https://doi.org/10.1590/S0100-29452014000500025>
- Landero, N., Lara, M., Andrade, P., Aguilar, A., & Aguado, J. (2016). Alternativas para el control de *Colletotrichum* spp. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 7(5), 1189-1198. Http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S2007-09342016000501189&lng=es&nrm=iso&tlng=es.
- Love, K., & Paull, R. (2011). *Rollinia*. *Hawaii Tropical Fruit Growers, CTAHR Department of Tropical Plant and Soil Sciences*.
- Ministerio de Agricultura Ganadería (MAG). (2008). *Guanábana (Annona muricata L) Annonaceae, disponible en: Http://www.mag.go.cr/ [Consultada: 2008, febrero 19]. - https://www.google.com/search?q=Ministerio+de+Agricultura+Ganader%C3%ADa+(MAG).+2008.+Guan%C3%A1bana+(Annona+muricata+L)+Annonaceae%2C+dispon*

ible+en%3A+http%3A%2F%2Fwww.mag.go.cr%2F+%5BConsultada%3A+2008%2C+febrero+19%5

- Medina, F. (2017). *Crecimiento y fenología de diez especies frutales amazónicas, establecidas en el Jardín Botánico de la quinta El Padmi, Zamora Chinchipe*. <http://dspace.unl.edu.ec/jspui/handle/123456789/19967>
- Mejía, K. (2018). *Frutos nativos consumidos por la población de la baja Amazonía peruana*. Instituto de Investigaciones de la amazonia peruana (IIAP).
- Mercado, C., & Ccoicca, R. (2024). Efecto de microorganismos rizosféricos en el control de la antracnosis (*Colletotrichum gloeosporioides* Penz), en plantaciones de guanábana (*Annona muricata* L.) en el Anexo 14, San Ramón. *Universidad Nacional Daniel Alcides Carrión*. <http://repositorio.undac.edu.pe/handle/undac/4105>
- Oliveira, M. (2017). *Prospecção fitoquímica, identificação e avaliação da atividade microbiológica de metabólitos secundários de Annona mucosa Jacq*. <http://rosario.ufma.br:8080/jspui/handle/123456789/2173>
- Padilla, R., & Ríos, H. (2022). *Compota a base de Rollinia mucosa (anona) y Oenocarpus bataua Mart (ungurahui) y su valoración antioxidante*. <https://repositorio.unapikitos.edu.pe/handle/20.500.12737/7965>
- Pérez, L., José, M., & Beltrán, J. (2003). Caracterización morfológica y patogénica de *Colletotrichum* sp. Como agente causal de la antracnosis en ñame Dioscorea sp. *Revista Colombiana de Biotecnología*, V(1), 24-35.
- Quevedo, E., & Montañez, O. (1994). *Estudio anatómico preliminar de raíz y brote del anón amazónico (rollinia mucosa (jacq.) baill.)*. <https://repositorio.unal.edu.co/handle/unal/39432>
- Réblová, M., Gams, W., & Seifert, A. (2011). Monilochaetes and allied genera of the Glomerellales, and a reconsideration of families in the Microascales [Text]. *Westerdijk Fungal Biodiversity Institute*. <https://doi.org/10.3114/sim.2011.68.07>
- Rojo, I., Álvarez, B., García, S., León, J., Sañudo, A., & Allende, R. (2017). Situación actual de *Colletotrichums* spp. en México: Taxonomía, caracterización, patogénesis y control. *Revista Mexicana de Fitopatología, Mexican Journal of Phytopathology*, 35(3). <https://doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.1703-9>
- Salinas, A., Vidal, L., Vidal, A., García, F., & Yáñez, M. (2020). First report of anthracnose lesions caused by *Colletotrichum siamense* on *Annona scleroderma* fruits in Mexico.

- Journal of Plant Pathology*, 102(1), 261-261. <https://doi.org/10.1007/s42161-019-00398-0>
- Saldarriaga, A., Castaño, J., & Arango, R. (2008). Caracterización del agente causante de la antracnosis en tomate de árbol, manzano y mora.
- Tamay de Dios, Ibarra C & Velasquillo. (2013). Fundamentos de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y de la PCR en tiempo real. *Investigación En Discapacidad*, 2, 70–78. <http://www.medigraphic.org.mx/>
- Tous, J. (2008). *Caracterización morfológica y molecular del hongo Colletotrichum spp agente causal de la antracnosis en Ñame (discórea spp) en los departamentos de Bolívar, Córdoba y Sucre*. Universidad de Sucre.
- Udayanga, D., Manamgoda, D. S., Liu, X., Chukeatirote, E., & Hyde, K. D. (2013). What are the common anthracnose pathogens of tropical fruits? *Fungal Diversity*, 61(1), 165 179. <https://doi.org/10.1007/s13225-013-0257-2>
- Vásquez, L., & Fetta, K. (2023). *Efecto antibacteriano del gel de extracto de Rollinia mucosa (Jacq.) Baill “anona” frente a cepas de colección americana de cultivos*. <https://repositorio.uwiener.edu.pe/handle/20.500.13053/10245>
- Vázquez, L., Carreira, M., Balsa, C. & Orengo, D. (2020). 16SPyPrimer: un paquete en python para el análisis de la cobertura de primers del gen 16S rRNA. <http://hdl.handle.net/10609/120626>
- Velázquez, A., García, E., Robles, L., Nava, C., & Nieto, D. (2018). Primer reporte del género *Colletotrichum* spp. En frutos de pimienta gorda (*Pimenta dioica*) en Veracruz, México. *Revista mexicana de fitopatología*, 36(2), 342-355.
- Vilela, N., & Pereira, K. (2014). Principais doenças de Anonáceas no Brasil: Descrição e controle. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 36, 55-64. <https://doi.org/10.1590/S0100-29452014000500006>
- Villanueva, R., Hernández, M., Yáñez, J., Téliz, D., Mora, A., Cárdenas, E., & Castañeda, Á. (2005). Caracterización e identificación de *Colletotrichum fragariae* en frutos de chirimoya. *Agrociencia*, 39(1), 93-106.
- Villanueva, R., Yáñez, J., & Hernández, M. (2008). Especies de *Colletotrichum* en chirimoya (*Annona cherimola* Mill.). *Agrociencia*, 42(6), 689-701.
- Xavier, C. (2018). *Caracterização de espécies de colletotrichum em vegetação de Mata Atlântica no estado do Rio de Janeiro, Brasil*. (Tesis de maestría, Universidad Federal Rural do Rio de Janeiro)

ANEXOS

Anexo 1. *Colección de muestras con síntomas de antracnosis en campo.*



Nota. (*) A-B. Plantaciones de anona en la zona del Vraem-Kimbiri. C-D. Frutos de anona con síntomas de antracnosis observados en campo. E-F-G-H. Recolección de frutos sintomáticos de distintos predios. I. Embolsado de muestras en bolsas de papel para su transporte y análisis en el laboratorio.

Anexo 2. Aislamiento e identificación del patógeno.



Nota. (*) A. Muestras con su respectiva etiqueta de información, listas para el análisis en el laboratorio. B. Frutos de anona con síntomas de antracnosis. C. Desinfección con hipoclorito de sodio. D. Enjuagado con agua estéril (tres veces). E. Frutos incubados en cámara húmeda. F. Identificación del hongo *Colletotrichum*. G. Siembra del hongo en medio PDA, utilizando la cámara de flujo laminar. H. Los 25 aislamientos obtenidos de *Colletotrichum* en el laboratorio. I. Preservación de los aislamientos en frío, en tubos con medio PDA.

Anexo 3. Prueba de patogenicidad en frutos verdes.



Nota. (*) A. Frutos de anona verdes y sanos. B. Lavado de los frutos con agua corriente. C. Desinfección con hipoclorito de sodio. D. Enjuagado con agua estéril (tres veces). E-F. Inoculación por método de herida. G. Frutos inoculados, incubados en cámara húmeda.

Anexo 4. Prueba de patogenicidad en frutos maduros.



Nota. (*) A. Frutos de anona maduros y sanos. B. Lavado de los frutos con agua corriente. C. Desinfección con hipoclorito de sodio. D. Enjuagado con agua estéril (tres veces). E-F. Inoculación por método de herida. G-H. Frutos inoculados, incubados en cámara húmeda.

Anexo 5. Identificación molecular realizada en el Laboratorio Umbrella.



Nota. (*) A. En las instalaciones del Laboratorio Umbrella. B. Placas con cultivos jóvenes de los aislamientos M1, M14 y M18. C. Para la extracción del ADN se utilizó el protocolo del kit NucleoSpin® Microbial DNA. D-E. Zona de extracción del ADN. F-G. Extracción de ADN de los aislamientos siguiendo el protocolo establecido. H. Zona de pre-PCR. I. Zona de PCR.

Anexo 6. Dimensiones de los conidios de los aislamientos M1, M2, M3, M4 y M5.

M01			M02			M03			M04			M 05		
N°	Largo	Ancho	N°	Largo	Ancho	N°	Largo	Ancho	N°	Largo	Ancho	N°	Largo	Ancho
1	11.7	3.0	1	12.1	2.6	1	11.8	2.9	1	13.2	3.4	1	11.1	2.9
2	12.2	2.8	2	11.2	3.0	2	10.4	2.9	2	13.7	2.5	2	12.7	3.4
3	12.3	2.9	3	10.7	3.5	3	10.6	3.0	3	12.9	3.0	3	11.5	4.0
4	11.4	3.1	4	11.2	3.7	4	11.0	4.0	4	12.1	3.8	4	11.7	3.0
5	11.9	3.3	5	12.5	3.4	5	11.8	2.5	5	11.1	3.7	5	11.8	3.5
6	11.2	3.4	6	12.3	3.4	6	11.2	3.4	6	13.5	3.1	6	11.9	2.6
7	10.3	4.1	7	11.6	3.4	7	12.7	3.4	7	11.4	2.8	7	11.4	3.9
8	10.7	3.4	8	12.4	3.5	8	11.5	2.7	8	14.1	3.3	8	11.7	3.2
9	11.4	3.3	9	12.3	3.9	9	12.4	2.7	9	11.3	3.9	9	11.8	3.3
10	11.3	3.6	10	13.5	3.1	10	12.8	3.3	10	10.6	3.6	10	11.5	3.1
11	11.1	3.0	11	11.9	3.4	11	11.5	2.5	11	12.8	2.9	11	10.7	3.2
12	11.8	3.2	12	11.5	3.6	12	10.8	3.6	12	13.0	4.0	12	12.1	2.7
13	11.5	3.1	13	11.4	2.8	13	13.4	3.0	13	10.6	3.6	13	11.8	3.7
14	11.2	3.0	14	11.4	3.9	14	11.2	2.8	14	11.0	2.4	14	11.5	3.0
15	11.4	4.1	15	11.6	3.6	15	11.8	3	15	12.6	3.4	15	11.1	3.0
16	12.7	3.5	16	11.3	2.7	16	11.7	3.5	16	13.6	3.1	16	11.4	3.1
17	11.4	3.1	17	11.5	4.3	17	12.1	2.4	17	14.3	3.8	17	12.2	3.4
18	11.6	2.9	18	10.6	2.9	18	11.6	3.0	18	10.8	2.8	18	11.6	3.4
19	11.3	3.4	19	11.6	2.9	19	11.8	3.3	19	12.8	3.6	19	11.4	3.7
20	12.6	2.8	20	11.8	2.4	20	10.6	2.8	20	12.8	3.0	20	10.9	3.2
21	12.2	3.3	21	11.1	2.9	21	11.5	2.8	21	15.6	2.8	21	11.5	3.7
22	11.4	2.8	22	10.8	3.8	22	11.8	3.6	22	12.9	3.2	22	12.3	4.4
23	12.1	3.2	23	14.0	3.3	23	11.0	3.2	23	11.4	3.7	23	11.3	3.5
24	11.5	3.4	24	11.1	3.2	24	11.5	3.1	24	11.9	3.1	24	12.0	2.8
25	12.0	2.7	25	10.8	3.3	25	11.0	3.1	25	12.0	3.8	25	13.0	3.2
26	12.0	2.7	26	11.4	3.1	26	11.6	3.3	26	11.8	3.4	26	11.1	3.7
27	11.2	3.0	27	13.1	3.5	27	11.7	3.5	27	11.5	3.0	27	12.0	2.4
28	11.8	4.0	28	11.8	3.8	28	13.0	3.0	28	11.8	3.4	28	11.6	3.3
29	12.4	3.4	29	11.6	3.8	29	15.9	3.2	29	12.5	3.3	29	12.0	3.1
30	11.4	3.2	30	11.3	3.4	30	11.3	3.3	30	13.7	3.5	30	11.2	2.9
31	11.6	3.5	31	11.9	3.5	31	10.7	2.9	31	13.1	3.3	31	11.4	3.4
32	11.1	3.1	32	11.3	3.2	32	11.3	3.5	32	11.4	3.5	32	13.2	4.0
33	10.9	2.9	33	10.8	3.7	33	11.4	3.5	33	15.4	3.9	33	12.0	4.3
34	13.0	3.4	34	12.1	3.6	34	11.1	3.7	34	11.7	3.6	34	12.0	3.8
35	11.1	3.0	35	11.9	4.1	35	11.9	2.8	35	11.5	3.6	35	11.0	2.9
36	11.5	2.7	36	10.9	3.7	36	11.4	3.7	36	11.4	3.4	36	12.8	3.8
37	12.5	3.2	37	12.2	3.5	37	12.0	3.1	37	11.4	2.8	37	11.3	2.9
38	11.6	3.4	38	12.1	2.4	38	11.0	3.3	38	11.4	3.2	38	11.7	3.4
39	12.0	3.0	39	11.2	3.3	39	11.3	4.0	39	12.4	2.9	39	11.7	3.1
40	11.6	3.1	40	11.0	2.9	40	10.6	2.7	40	13.6	2.8	40	12.2	3.8
41	12.7	3.1	41	11.3	3.5	41	13.1	2.7	41	12.8	3.0	41	10.9	3.9
42	13.3	2.5	42	10.8	3.7	42	12.8	2.6	42	11.7	3.4	42	11.8	2.9
43	12.3	3.1	43	12.4	3.7	43	12.5	3.0	43	11.8	3.3	43	11.9	3.1
44	12.8	3.1	44	12.0	3.3	44	10.3	2.9	44	11.6	3.3	44	12.5	3.7
45	13.5	3.3	45	12.2	3.0	45	11.6	2.8	45	11.9	3.2	45	12.5	3.8
46	11.3	3.4	46	13.2	3.0	46	11.6	3.1	46	12.1	3.3	46	12.4	3.7
47	11.4	3.1	47	11.1	2.7	47	13.8	3.3	47	12.2	3.1	47	14.1	3.7
48	11.2	2.8	48	10.9	2.2	48	12.2	3.1	48	12.3	3.0	48	13.0	4.0
49	12.5	3.1	49	10.4	2.5	49	10.9	4.0	49	11.3	2.8	49	12.4	3.8
50	11.1	2.9	50	11.0	3.0	50	13.3	3.1	50	10.8	3.1	50	12.2	3.6
$\bar{x}$	11.76	3.2	$\bar{x}$	11.64	3.3	$\bar{x}$	11.76	3.1	$\bar{x}$	12.30	3.3	$\bar{x}$	11.86	3.4

Anexo 7. Dimensiones de los conidios de los aislamientos M6, M7, M8, M9 y M10.

M 06			M 07			M 08			M 09			M 10		
N°	Largo	Ancho	N°	Largo	Ancho	N°	Largo	Ancho	N°	Largo	Ancho	N°	Largo	Ancho
1	12.1	3.2	1	12.0	3.4	1	11.0	3.5	1	13.3	3.2	1	11.5	3.9
2	14.3	3.1	2	12.6	3.3	2	11.2	3.2	2	14.4	3.2	2	13.2	3.7
3	12.2	3.3	3	12.0	3.4	3	12.6	3.1	3	13.7	3.3	3	12.5	3.1
4	14.2	3.1	4	12.3	2.8	4	13.2	3.0	4	12.0	3.6	4	12.3	2.9
5	11.5	3.3	5	13.0	2.9	5	11.5	3.3	5	11.9	3.4	5	11.9	4.0
6	11.9	3.1	6	12.0	3.1	6	11.3	2.7	6	12.0	3.7	6	13.0	3.3
7	11.3	2.5	7	11.9	3.0	7	13.2	2.8	7	13.7	3.4	7	12.3	3.4
8	11.5	3.5	8	13.3	3.3	8	13.8	3.2	8	11.7	3.6	8	11.2	3.6
9	12.0	3.5	9	11.4	3.3	9	12.6	3.0	9	11.9	3.0	9	11.2	3.6
10	10.8	3.3	10	11.7	3.4	10	11.3	3.0	10	12.7	3.9	10	13.4	3.8
11	11.9	2.8	11	13.3	3.9	11	12.5	2.7	11	13.0	3.3	11	11.3	3.5
12	12.0	3.4	12	11.2	3.2	12	12.7	2.8	12	12.3	3.6	12	13.3	3.1
13	11.8	2.7	13	12.1	2.7	13	12.6	3.2	13	11.5	3.2	13	11.4	3.6
14	11.3	3.2	14	13.1	3.1	14	13.4	3.2	14	12.2	3.6	14	11.9	4.0
15	11.4	3.1	15	12.2	3.6	15	11.4	3.1	15	12.1	3.4	15	12.0	3.3
16	12.7	3.0	16	11.5	3.8	16	12.6	3.0	16	10.8	3.3	16	11.8	3.4
17	11.3	3.4	17	11.7	3.8	17	11.6	2.7	17	13.0	3.4	17	12.3	3.4
18	10.6	3.6	18	10.8	3.8	18	11.0	3.6	18	12.7	3.0	18	12.9	4.2
19	12.4	3.8	19	11.6	3.1	19	13.5	2.9	19	11.7	3.1	19	10.9	3.7
20	12.0	3.8	20	11.4	2.9	20	11.1	2.9	20	14.1	3.1	20	11.8	3.4
21	12.7	3.7	21	10.8	3.1	21	12.3	2.7	21	11.9	4.0	21	13.0	4.0
22	12.5	3.8	22	12.5	3.6	22	11.4	3.2	22	12.3	2.8	22	11.1	3.5
23	11.6	2.7	23	12.1	3.2	23	11.6	3.3	23	12.1	3.6	23	10.8	3.9
24	11.6	3.3	24	12.4	3.4	24	12.2	3.1	24	12.8	3.3	24	11.2	3.8
25	10.8	3.6	25	12.3	3.3	25	12.1	3.0	25	12.7	3.0	25	14.1	3.3
26	10.8	3.0	26	11.6	3.2	26	13.5	3.4	26	12.3	3.1	26	15.7	3.8
27	12.8	3.4	27	11.7	3.3	27	13.3	3.0	27	14.4	3.8	27	11.3	3.4
28	14.2	2.8	28	12.1	3.1	28	13.4	3.3	28	12.5	3.0	28	12.2	2.6
29	11.8	3.2	29	11.2	2.8	29	12.4	3.2	29	13.6	3.4	29	13.1	3.4
30	11.1	3.5	30	12.1	2.9	30	11.1	3.3	30	11.9	3.1	30	10.9	3.6
31	11.6	3.3	31	12.5	3.0	31	11.7	3.3	31	12.7	3.2	31	13.5	3.9
32	12.1	3.1	32	14.7	3.0	32	13.6	3.4	32	11.2	3.7	32	11.8	4.0
33	11.0	3.7	33	11.5	4.5	33	12.2	2.8	33	12.3	3.3	33	13.4	3.7
34	10.6	3.5	34	11.6	3.0	34	12.0	2.5	34	11.3	4.0	34	13.2	3.0
35	11.5	3.9	35	13.2	3.0	35	12.2	2.9	35	12.8	3.3	35	11.3	3.5
36	11.0	2.8	36	12.3	3.0	36	12.1	3.1	36	13.3	3.3	36	11.2	3.4
37	12.0	2.7	37	11.7	3.7	37	13.0	3.6	37	13.2	3.2	37	12.9	3.1
38	11.9	3.0	38	12.2	2.8	38	12.6	3.4	38	13.3	3.8	38	11.9	3.9
39	11.2	3.1	39	13.5	2.5	39	13.8	3.4	39	11.5	4.2	39	11.7	3.8
40	11.2	3.2	40	11.8	3.6	40	14.0	3.2	40	12.2	3.3	40	12.7	3.7
41	12.0	3.0	41	11.3	3.7	41	12.7	3.3	41	11.7	3.2	41	13.2	4.0
42	11.6	3.1	42	13.4	3.0	42	11.2	3.4	42	12.4	3.6	42	11.2	3.4
43	11.9	3.0	43	12.1	3.2	43	11.4	3.3	43	13.9	3.2	43	12.6	3.0
44	10.9	3.5	44	12.1	3.4	44	11.2	3.2	44	13.5	3.1	44	11.7	3.0
45	11.2	3.3	45	11.9	2.9	45	13.4	2.9	45	13.1	3.6	45	12.6	3.7
46	11.9	3.3	46	11.5	3.4	46	13.1	3.2	46	13.9	3.1	46	11.3	3.8
47	11.6	2.9	47	11.5	3.4	47	11.2	3.3	47	11.7	3.3	47	11.9	3.2
48	12.3	3.6	48	11.4	3.6	48	12.9	3.5	48	13.5	3.4	48	11.1	3.5
49	12.4	3.1	49	12.7	2.8	49	11.6	3.3	49	11.7	3.0	49	12.1	3.5
50	11.6	3.2	50	13.0	2.7	50	12.3	3.1	50	12.1	3.1	50	13.4	3.6
$\bar{x}$	11.81	3.2	$\bar{x}$	12.12	3.2	$\bar{x}$	12.31	3.1	$\bar{x}$	12.57	3.4	$\bar{x}$	12.20	3.5

Anexo 8. Dimensiones de los conidios de los aislamientos M11, M12, M13, M14 y M15.

M 11			M 12			M 13			M 14			M 15		
N°	Largo	Ancho	N°	Largo	Ancho	N°	Largo	Ancho	N°	Largo	Ancho	N°	Largo	Ancho
1	10.3	2.7	1	10.2	2.3	1	8.4	2.4	1	14.5	3.3	1	13.6	3.5
2	9.8	2.6	2	9.3	2.6	2	8.9	2.4	2	15.6	2.9	2	14.8	3.3
3	8.8	2.4	3	9.3	2.3	3	9.4	2.8	3	15.0	3.2	3	14.2	3.1
4	10.1	2.9	4	8.7	3.0	4	8.4	2.3	4	13.7	2.3	4	13.7	3.4
5	9.0	2.1	5	10.5	2.4	5	8.8	2.7	5	13.7	3.2	5	13.6	2.9
6	9.1	2.5	6	9.3	2.0	6	10.0	2.7	6	14.5	2.9	6	14.9	3.1
7	8.9	2.4	7	9.3	2.4	7	9.2	2.6	7	14.6	2.7	7	15.2	3.1
8	9.4	2.3	8	10.4	2.8	8	9.9	2.5	8	14.9	3.1	8	14.7	3.0
9	9.4	2.4	9	8.2	2.6	9	8.3	2.4	9	14.3	2.9	9	16.1	3.4
10	9.5	2.7	10	9.9	2.5	10	9.7	2.6	10	14.6	3.0	10	15.4	3.0
11	9.1	2.7	11	10.7	2.5	11	10.8	2.3	11	14.3	3.0	11	14.6	3.5
12	9.3	2.5	12	10.1	2.6	12	10.1	2.8	12	15.0	2.9	12	14.5	3.4
13	8.8	2.3	13	9.4	2.6	13	8.6	2.8	13	15.3	3.0	13	14.2	3.6
14	9.8	2.7	14	10.4	2.4	14	8.5	2.4	14	15.4	3.0	14	15.3	3.0
15	9.5	2.5	15	10.2	2.2	15	8.4	2.4	15	15.6	2.9	15	14.4	3.2
16	8.6	2.5	16	8.8	2.3	16	8.6	2.4	16	14.2	2.6	16	13.9	3.9
17	8.3	2.5	17	9.8	2.3	17	9.5	2.4	17	13.6	3.2	17	15.5	3.2
18	9.1	2.7	18	9.4	2.8	18	9.8	2.5	18	14.7	3.0	18	15.5	3.8
19	9.6	2.5	19	9.5	2.4	19	9.9	2.4	19	14.2	3.0	19	13.1	3.3
20	9.4	2.6	20	10.7	2.9	20	10.4	2.7	20	15.8	2.7	20	15.4	3.3
21	7.8	2.7	21	10.5	2.9	21	8.0	2.4	21	15.3	3.0	21	14.3	3.6
22	8.0	2.0	22	10.8	2.7	22	10.2	2.7	22	14.5	3.2	22	14.3	3.6
23	8.5	2.3	23	8.8	2.3	23	9.6	3.0	23	13.6	2.8	23	15.6	3.1
24	9.6	2.7	24	11.8	2.6	24	10.3	2.6	24	13.3	3.2	24	14.4	3.5
25	9.4	2.3	25	8.1	2.2	25	9.8	2.8	25	15.2	2.8	25	15.8	3.2
26	8.8	2.9	26	9.8	2.6	26	8.6	2.4	26	14.7	2.7	26	13.7	3.3
27	9.3	2.6	27	9.9	2.3	27	8.7	2.6	27	12.6	2.6	27	14.0	3.3
28	9.3	2.8	28	8.3	3.2	28	9.3	2.6	28	13.3	2.7	28	13.8	3.8
29	8.0	2.1	29	8.9	2.6	29	10.1	2.7	29	13.2	2.5	29	13.7	3.8
30	9.0	2.2	30	10.1	2.3	30	9.1	2.7	30	15.4	2.9	30	15.3	3.3
31	9.0	2.7	31	9.2	2.8	31	11.0	2.6	31	13.1	3.2	31	16.2	3.8
32	9.8	2.7	32	9.2	2.3	32	9.6	2.7	32	14.5	3.3	32	14.8	3.5
33	9.2	2.4	33	9.5	2.2	33	9.8	2.4	33	14.2	3.3	33	14.6	3.7
34	8.6	2.0	34	11.0	2.2	34	10.0	2.6	34	13.9	2.8	34	14.4	3.0
35	8.0	2.7	35	9.9	2.6	35	9.3	2.6	35	13.0	3.0	35	14.6	3.1
36	9.2	2.7	36	10.5	2.8	36	9.5	2.8	36	14.0	3.0	36	13.8	3.1
37	8.4	2.9	37	8.9	2.8	37	9.7	2.4	37	14.5	3.1	37	15.4	3.2
38	9.6	2.5	38	8.7	2.6	38	9.1	2.5	38	14.3	2.5	38	13.1	3.0
39	10.2	2.3	39	11.1	2.6	39	10.1	2.5	39	14.8	3.1	39	14.4	3.4
40	9.7	2.5	40	10.5	2.1	40	8.9	2.4	40	15.0	2.5	40	14.1	3.2
41	9.8	2.6	41	8.6	2.7	41	8.9	2.5	41	14.1	3.0	41	13.3	3.5
42	10.7	2.6	42	8.0	2.5	42	8.5	2.7	42	13.4	3.1	42	15.3	3.4
43	10.1	2.8	43	10.6	3.1	43	9.0	2.6	43	14.0	2.9	43	13.8	3.6
44	8.3	2.7	44	9.9	2.7	44	9.5	2.9	44	13.6	3.1	44	14.8	3.2
45	9.5	2.5	45	9.6	2.1	45	9.3	2.6	45	15.3	2.9	45	15.5	3.2
46	10.0	2.3	46	8.4	2.8	46	9.6	2.2	46	13.5	2.7	46	15.1	3.5
47	8.9	2.9	47	9.5	2.9	47	8.9	2.6	47	14.8	3.1	47	14.1	3.2
48	10.5	2.6	48	9.3	2.3	48	10.6	2.7	48	13.7	3.2	48	13.8	3.5
49	10.1	2.6	49	9.7	2.4	49	8.7	2.8	49	15.1	3.0	49	14.7	3.3
50	8.9	2.7	50	10.1	2.5	50	9.4	2.2	50	15.7	3.0	50	16.9	3.2
$\bar{x}$	9.24	2.5	$\bar{x}$	9.67	2.5	$\bar{x}$	9.37	2.6	$\bar{x}$	14.38	2.9	$\bar{x}$	14.60	3.3

Anexo 9. Dimensiones de los conidios de los aislamientos M16, M17, M18, M19 y M20.

M 16			M 17			M 18			M 19			M 20		
N°	Largo	Ancho	N°	Largo	Ancho	N°	Largo	Ancho	N°	Largo	Ancho	N°	Largo	Ancho
1	14.8	3.2	1	10.3	2.4	1	9.9	2.7	1	10.6	2.6	1	15.0	3.2
2	15.1	3.0	2	10.3	2.8	2	8.5	2.4	2	10.7	2.6	2	13.8	3.4
3	14.3	3.4	3	8.9	2.3	3	10.4	2.9	3	8.5	2.7	3	13.2	3.4
4	13.8	3.0	4	9.4	2.5	4	9.1	2.9	4	8.2	2.4	4	13.4	3.1
5	14.9	3.3	5	9.9	2.6	5	9.6	2.3	5	9.4	2.5	5	14.6	3.4
6	13.4	3.0	6	9.4	2.8	6	10.4	2.8	6	9.4	2.4	6	15.2	3.0
7	14.4	3.3	7	11.4	2.4	7	8.7	2.7	7	9.0	3.1	7	14.6	2.8
8	14.5	3.0	8	9.3	2.4	8	9.1	2.6	8	9.0	2.7	8	13.7	3.1
9	14.5	3.0	9	9.3	2.6	9	9.8	2.4	9	9.5	2.7	9	15.0	3.1
10	15.2	2.8	10	9.9	2.8	10	9.6	2.8	10	8.6	2.8	10	14.2	3.0
11	13.8	3.0	11	10.3	2.7	11	9.7	2.7	11	9.8	2.4	11	14.1	3.1
12	14.9	3.2	12	10.8	2.4	12	10.9	2.5	12	10.9	2.5	12	15.7	3.3
13	14.5	2.9	13	10.6	2.3	13	9.6	2.6	13	9.3	2.0	13	14.5	2.9
14	13.8	3.5	14	9.8	2.6	14	10.0	2.4	14	10.2	2.3	14	15.1	2.8
15	15.7	3.8	15	9.5	3.3	15	9.0	2.6	15	9.6	2.4	15	14.7	3.0
16	14.6	3.3	16	9.9	2.6	16	9.8	2.6	16	8.4	2.1	16	16.2	3.1
17	14.6	3.3	17	8.9	3.1	17	9.8	2.6	17	9.5	2.3	17	15.4	3.4
18	14.1	3.0	18	9.3	3.1	18	10.3	2.8	18	9.3	2.5	18	13.9	3.8
19	13.7	3.0	19	10.7	2.4	19	9.1	2.6	19	9.5	2.5	19	15.4	2.9
20	14.3	2.9	20	11.1	3.0	20	9.9	2.4	20	9.6	2.3	20	13.6	3.2
21	14.0	3.2	21	8.9	2.8	21	9.1	2.5	21	8.8	2.6	21	14.0	3.1
22	15.2	3.4	22	10.3	2.8	22	8.9	2.6	22	8.9	2.1	22	14.3	2.7
23	14.8	3.7	23	12.2	2.9	23	10.1	2.3	23	8.9	2.7	23	14.2	3.1
24	14.7	3.1	24	10.2	2.6	24	9.6	2.4	24	8.7	2.3	24	14.8	3.1
25	14.7	3.1	25	9.1	2.9	25	10.4	2.4	25	9.1	2.9	25	13.7	3.1
26	14.4	3.5	26	9.9	2.7	26	9.8	2.3	26	8.6	2.4	26	15.2	3.1
27	15.1	3.3	27	10.3	2.8	27	9.3	2.5	27	9.4	2.6	27	15.2	3.5
28	15.2	3.0	28	11.9	2.8	28	9.0	2.2	28	10.3	2.6	28	14.3	3.5
29	13.6	3.4	29	9.9	2.6	29	9.7	2.4	29	10.5	2.4	29	15.6	3.1
30	14.2	2.9	30	10.3	2.7	30	8.8	2.4	30	9.6	2.5	30	14.7	3.6
31	13.8	3.3	31	10.9	2.6	31	10.1	2.6	31	9.5	2.6	31	15.4	3.6
32	13.6	3.2	32	10.5	2.3	32	10.2	2.6	32	10.2	2.3	32	15.8	3.2
33	14.6	3.4	33	9.3	2.5	33	9.7	2.3	33	9.5	2.5	33	14.0	3.1
34	15.6	3.0	34	10.0	2.3	34	10.5	2.7	34	9.2	2.3	34	14.8	3.1
35	13.3	3.4	35	10.9	2.4	35	9.2	2.9	35	10.2	2.4	35	13.3	3.0
36	13.9	3.0	36	10.2	2.8	36	8.9	2.4	36	9.8	2.6	36	15.0	2.9
37	16.2	2.9	37	9.3	3.1	37	10.0	2.4	37	10.1	2.1	37	14.3	3.0
38	14.1	3.2	38	9.8	2.8	38	9.9	2.5	38	11.3	2.5	38	14.3	3.3
39	14.9	3.1	39	8.9	3.0	39	9.4	2.7	39	9.4	2.1	39	15.6	3.4
40	15.4	3.1	40	10.8	2.6	40	9.5	2.4	40	9.5	2.3	40	16.0	3.1
41	14.3	3.5	41	10.4	2.2	41	10.4	2.6	41	9.6	2.4	41	14.5	3.2
42	14.8	3.2	42	10.5	2.8	42	9.9	2.6	42	10.0	2.3	42	14.5	3.6
43	15.8	3.2	43	10.3	2.8	43	9.7	2.3	43	9.7	2.4	43	14.7	2.9
44	15.0	3.1	44	12.7	2.5	44	10.0	2.4	44	9.6	2.2	44	13.0	2.9
45	14.3	2.7	45	10.8	2.7	45	9.0	2.4	45	9.8	2.5	45	15.2	3.5
46	15.4	3.1	46	9.4	2.5	46	10.2	2.2	46	9.8	2.5	46	13.4	3.3
47	14.5	3.0	47	10.5	2.6	47	9.5	2.6	47	10.8	2.9	47	14.4	2.9
48	14.8	3.0	48	10.1	2.7	48	10.2	2.2	48	10.2	2.1	48	15.4	3.0
49	14.3	3.3	49	10.0	2.5	49	10.6	2.6	49	10.1	2.6	49	15.0	3.1
50	15.8	3.4	50	10.8	2.7	50	10.4	2.7	50	9.6	2.5	50	15.9	3.1
$\bar{x}$	14.58	3.2	$\bar{x}$	10.16	2.7	$\bar{x}$	9.70	2.5	$\bar{x}$	9.59	2.5	$\bar{x}$	14.64	3.2

Anexo 10. Dimensiones de los conidios de los aislamientos M21, M22, M23, M24 y M25.

M 21			M 22			M 23			M 24			M 25		
N°	Largo	Ancho	N°	Largo	Ancho	N°	Largo	Ancho	N°	Largo	Ancho	N°	Largo	Ancho
1	14.0	3.7	1	14.0	3.5	1	12.0	2.9	1	13.2	3.2	1	12.2	2.8
2	14.7	3.2	2	14.2	3.8	2	12.0	3.3	2	13.3	3.1	2	12.6	2.6
3	14.4	3.3	3	14.0	3.2	3	12.3	3.1	3	14.7	2.8	3	12.7	3.3
4	14.6	3.6	4	14.6	3.5	4	13.3	2.9	4	12.5	2.7	4	11.4	3.2
5	14.7	3.4	5	13.9	3.0	5	12.8	3.1	5	12.0	3.2	5	11.4	3.2
6	14.8	3.5	6	15.3	3.0	6	13.3	3.3	6	13.6	2.9	6	12.2	3.3
7	14.9	3.1	7	15.0	3.4	7	14.9	2.5	7	12.4	3.1	7	11.4	3.1
8	15.7	3.3	8	13.9	3.5	8	12.5	2.6	8	12.9	3.2	8	12.0	3.1
9	14.7	3.4	9	14.7	3.5	9	12.6	3.0	9	13.9	3.0	9	11.6	3.1
10	13.4	3.3	10	15.4	3.1	10	12.7	2.9	10	13.8	3.3	10	12.2	2.8
11	14.4	3.5	11	14.5	3.4	11	13.9	2.8	11	13.5	3.2	11	12.1	2.9
12	14.2	3.6	12	15.6	3.1	12	11.9	3.3	12	13.9	3.2	12	12.6	2.7
13	14.3	3.1	13	14.2	3.0	13	12.8	2.9	13	12.5	3.3	13	11.8	2.7
14	15.5	3.3	14	13.5	3.5	14	12.2	2.9	14	13.9	3.0	14	10.8	3.0
15	16.2	3.4	15	14.0	3.1	15	12.4	2.8	15	13.8	3.2	15	12.1	3.0
16	14.8	3.2	16	14.8	3.0	16	13.5	3.2	16	12.0	3.4	16	11.6	3.0
17	14.0	3.5	17	13.7	3.4	17	12.7	2.8	17	12.5	3.5	17	12.4	3.1
18	15.4	3.1	18	16.1	3.1	18	13.5	2.8	18	13.5	2.9	18	11.8	3.2
19	14.0	3.0	19	14.5	3.2	19	12.5	3.1	19	12.6	3.2	19	12.0	3.2
20	14.9	3.3	20	15.2	3.1	20	12.7	2.8	20	15.4	3.1	20	10.9	2.8
21	14.3	3.2	21	16.0	3.1	21	13.6	3.3	21	13.5	2.8	21	11.0	2.9
22	14.4	3.2	22	15.3	3.2	22	13.7	3.0	22	12.4	3.3	22	12.9	3.0
23	15.3	3.4	23	13.8	3.1	23	11.8	3.3	23	13.7	3.1	23	11.7	3.3
24	14.8	3.1	24	15.7	3.4	24	11.9	3.0	24	12.0	3.4	24	11.6	3.4
25	16.2	3.5	25	14.3	3.0	25	12.4	2.8	25	12.6	3.2	25	12.0	3.3
26	14.1	3.3	26	14.0	3.0	26	13.6	2.8	26	14.4	3.5	26	11.9	3.5
27	14.7	3.1	27	14.8	3.1	27	12.2	2.8	27	13.7	3.4	27	11.1	3.0
28	15.6	3.4	28	14.6	3.2	28	12.9	2.9	28	14.1	3.8	28	12.8	3.3
29	16.2	3.0	29	16.5	3.3	29	12.3	3.2	29	13.4	3.4	29	12.4	2.9
30	16.4	2.7	30	14.1	3.4	30	11.9	2.9	30	15.6	3.3	30	12.4	3.0
31	15.6	3.4	31	14.2	3.3	31	12.0	3.0	31	12.6	3.3	31	11.9	2.8
32	15.7	3.4	32	13.4	3.4	32	11.8	3.2	32	13.7	3.1	32	12.4	3.0
33	14.8	3.2	33	15.9	3.2	33	12.8	3.2	33	13.3	3.1	33	12.0	3.6
34	14.7	3.7	34	15.6	3.2	34	13.5	3.4	34	14.0	3.4	34	11.8	3.0
35	15.0	3.5	35	15.5	3.4	35	14.9	2.8	35	12.2	3.4	35	12.1	3.2
36	13.8	3.4	36	16.0	3.0	36	14.5	3.1	36	11.6	3.2	36	12.2	3.2
37	14.5	3.4	37	14.8	3.4	37	13.8	3.0	37	13.2	3.1	37	11.3	3.5
38	15.5	3.1	38	13.9	3.5	38	12.4	3.1	38	12.6	3.1	38	11.7	3.3
39	15.6	3.2	39	15.1	3.1	39	13.0	3.0	39	12.7	3.3	39	12.3	2.7
40	16.0	3.3	40	14.4	3.1	40	12.9	3.2	40	13.2	3.3	40	12.3	3.6
41	16.4	3.4	41	15.5	3.3	41	14.2	2.9	41	13.6	3.1	41	12.2	3.2
42	15.2	3.7	42	13.2	3.5	42	11.1	3.2	42	14.1	3.1	42	12.9	3.1
43	15.3	3.8	43	13.7	3.5	43	11.9	3.1	43	14.4	2.9	43	11.2	3.5
44	15.0	3.2	44	14.1	3.7	44	14.0	3.0	44	13.0	3.3	44	12.7	3.4
45	16.8	3.4	45	14.4	3.7	45	15.3	3.3	45	15.5	3.2	45	11.7	3.2
46	14.6	3.6	46	14.6	3.2	46	12.4	3.1	46	14.0	3.5	46	12.5	2.9
47	14.7	3.5	47	14.5	3.4	47	13.1	3.0	47	15.3	3.3	47	12.4	3.7
48	14.9	3.3	48	15.0	3.2	48	12.8	3.3	48	14.4	3.7	48	12.8	3.0
49	15.7	3.2	49	14.6	3.3	49	13.4	3.1	49	13.5	3.6	49	12.5	2.7
50	16.2	3.3	50	14.6	3.2	50	12.5	3.2	50	13.0	3.8	50	12.3	3.0
$\bar{x}$	15.03	3.3	$\bar{x}$	14.66	3.3	$\bar{x}$	12.90	3.0	$\bar{x}$	13.42	3.2	$\bar{x}$	12.02	3.1

Anexo 11. Dimensiones de las estructuras sexuales de los aislamientos M14 y M15.

M 14 Ascas			M 14 Ascosporas			M 15 Ascas			M 15 Ascosporas		
N°	Largo	Ancho	N°	Largo	Ancho	N°	Largo	Ancho	N°	Largo	Ancho
1	48.6	4.6	1	12.6	3.1	1	64.3	6.5	1	13.8	3.1
2	42.7	4.7	2	12.4	3.7	2	58.4	7.4	2	11.5	3.3
3	42.5	5.2	3	13.1	3.4	3	46.7	5.5	3	14.2	3.3
4	41.4	5.8	4	12.0	3.0	4	57.7	6.4	4	13.4	3.4
5	36.8	4.9	5	12.1	3.3	5	50.1	7.1	5	15.4	3.8
6	37.6	5.5	6	11.2	3.4	6	49.0	6.6	6	12.3	3.4
7	41.7	5.8	7	12.3	3.8	7	47.4	7.3	7	14.3	3.6
8	49.5	6.2	8	15.5	3.8	8	55.2	7.3	8	14.2	3.7
9	48.9	5.7	9	12.7	3.3	9	60.4	7.4	9	15.7	3.4
10	39.8	6.2	10	12.9	3.8	10	60.5	6.6	10	12.1	3.0
11	46.6	4.5	11	13.0	3.8	11	50.5	7.0	11	13.0	3.0
12	37.7	4.1	12	12.5	4.2	12	47.4	5.2	12	14.3	3.2
13	40.1	5.6	13	12.0	3.7	13	53.7	6.7	13	13.1	3.5
14	41.6	4.5	14	12.4	3.8	14	66.0	7.5	14	14.8	3.4
15	34.3	5.0	15	12.9	4.1	15	66.4	7.4	15	13.5	3.6
16	36.1	5.0	16	11.6	3.5	16	66.1	6.8	16	12.8	3.3
17	41.2	7.5	17	13.8	3.8	17	69.3	7.3	17	11.9	3.1
18	45.1	6.5	18	14.8	4.2	18	53.2	7.3	18	12.6	3.6
19	51.5	6.8	19	14.6	3.8	19	54.5	7.1	19	14.9	3.4
20	47.7	6.3	20	12.8	3.7	20	52.0	6.8	20	14.0	3.7
21	36.9	6.2	21	12.6	3.5	21	52.4	7.2	21	13.1	3.2
22	44.4	7.4	22	11.8	3.2	22	52.7	7.5	22	13.1	3.6
23	35.0	6.7	23	12.2	3.4	23	48.3	7.6	23	15.0	3.5
24	45.2	4.8	24	13.2	3.6	24	58.3	7.3	24	14.4	3.5
25	53.3	7.3	25	12.5	3.4	25	62.4	6.8	25	12.9	3.0
26	41.0	5.1	26	11.8	3.4	26	54.4	7.0	26	13.9	3.7
27	54.1	7.3	27	12.2	3.5	27	48.6	6.9	27	14.4	3.4
28	36.5	5.6	28	12.9	3.4	28	45.0	7.2	28	13.6	3.0
29	38.0	7.5	29	13.7	3.5	29	46.0	6.7	29	12.9	3.0
30	38.5	6.3	30	13.0	4.2	30	63.7	7.5	30	13.0	3.1
31	36.6	5.8	31	12.5	3.3	31	56.8	6.9	31	13.1	3.3
32	38.8	6.6	32	14.7	3.2	32	58.4	7.3	32	12.0	3.1
33	36.5	6.7	33	15.4	3.4	33	63.1	6.5	33	14.0	3.0
34	42.6	7.4	34	15.0	3.3	34	60.1	7.0	34	12.0	3.0
35	47.8	8.2	35	14.7	3.1	35	56.7	7.2	35	12.9	3.2
36	40.1	7.3	36	13.9	3.5	36	53.6	6.3	36	13.2	3.0
37	46.2	7.8	37	15.2	3.3	37	54.2	6.6	37	12.6	3.0
38	53.4	7.2	38	16.3	3.1	38	54.3	7.1	38	11.5	3.0
39	64.2	6.8	39	12.9	3.1	39	62.6	7.1	39	12.7	3.1
40	39.6	5.4	40	13.9	3.3	40	59.9	6.9	40	12.5	3.1
41	41.2	5.2	41	12.1	3.2	41	56.9	6.5	41	14.7	3.9
42	42.0	4.9	42	12.3	3.0	42	55.5	6.4	42	13.6	3.8
43	36.5	5.7	43	16.7	3.3	43	55.3	6.2	43	12.8	3.5
44	49.3	6.5	44	11.8	3.2	44	64.5	6.8	44	15.1	3.2
45	58.3	6.9	45	12.3	3.3	45	62.3	6.0	45	13.4	3.3
46	56.2	6.5	46	12.6	3.5	46	63.5	6.3	46	14.1	3.3
47	48.9	4.9	47	15.1	3.7	47	60.6	7.0	47	13.9	3.1
48	58.4	6.0	48	14.3	3.5	48	56.6	6.4	48	14.5	3.0
49	53.2	6.6	49	12.4	3.2	49	65.1	7.0	49	14.0	3.1
50	64.8	7.2	50	12.8	3.4	50	49.1	6.5	50	14.3	3.2
$\bar{x}$	44.58	6.1	$\bar{x}$	13.20	3.5	$\bar{x}$	56.59	6.9	$\bar{x}$	13.50	3.3

Anexo 12. Dimensiones de las estructuras sexuales de los aislamientos M16 y M20.

M 16 Ascas			M 16 Ascosporas			M 20 Ascas			M 20 Ascosporas		
N°	Largo	Ancho	N°	Largo	Ancho	N°	Largo	Ancho	N°	Largo	Ancho
1	55.1	7.5	1	12.3	3.2	1	51.7	6.8	1	14.3	3.2
2	48.4	7.0	2	12.4	3.1	2	57.7	6.9	2	13.8	3.0
3	46.3	7.2	3	13.6	3.4	3	51.3	7.7	3	13.1	3.3
4	48.7	7.0	4	12.6	3.3	4	67.0	7.2	4	13.3	3.6
5	59.2	6.5	5	13.4	3.2	5	44.3	6.1	5	13.3	3.4
6	55.8	7.0	6	12.3	3.2	6	43.2	7.2	6	12.0	3.2
7	46.3	7.0	7	12.0	3.1	7	49.6	7.3	7	12.2	3.1
8	45.6	7.2	8	11.9	3.1	8	49.7	7.0	8	11.1	3.3
9	45.4	6.5	9	11.5	3.0	9	53.6	6.8	9	11.4	3.3
10	46.9	7.3	10	12.7	3.3	10	54.7	7.1	10	12.9	3.3
11	53.2	7.0	11	12.6	3.1	11	49.8	5.9	11	14.0	3.2
12	45.1	6.9	12	13.4	3.0	12	50.7	7.9	12	14.2	3.1
13	49.9	6.3	13	11.8	3.4	13	49.8	7.2	13	15.3	3.3
14	49.2	6.9	14	13.9	3.4	14	51.4	7.2	14	14.2	3.0
15	50.0	6.4	15	12.8	3.5	15	49.3	7.4	15	12.9	3.2
16	47.3	6.3	16	12.4	3.2	16	52.9	7.3	16	12.1	3.0
17	44.7	6.4	17	13.8	3.2	17	54.5	7.3	17	11.2	3.1
18	48.1	7.1	18	13.4	3.2	18	45.5	6.5	18	11.3	3.0
19	44.0	7.2	19	14.4	3.3	19	44.2	6.3	19	11.2	3.2
20	49.1	6.9	20	14.6	3.1	20	47.6	6.4	20	11.3	3.0
21	48.1	7.0	21	13.7	3.3	21	43.1	6.8	21	11.4	3.2
22	49.9	7.4	22	13.4	3.0	22	44.0	7.6	22	11.6	3.0
23	49.4	7.2	23	12.7	3.3	23	64.0	8.1	23	12.1	3.0
24	49.1	7.1	24	14.3	3.0	24	64.1	6.8	24	12.9	3.1
25	50.5	6.6	25	14.5	3.0	25	50.4	7.4	25	13.1	3.4
26	55.4	7.5	26	13.6	3.2	26	45.2	6.6	26	13.1	3.2
27	58.4	7.1	27	14.2	3.3	27	43.5	7.6	27	13.3	3.1
28	48.0	6.7	28	13.6	3.0	28	48.4	8.1	28	11.3	3.0
29	58.0	7.3	29	11.5	3.0	29	41.5	7.3	29	12.1	3.0
30	53.6	7.5	30	14.8	3.2	30	40.4	7.4	30	12.7	3.4
31	55.9	7.0	31	12.0	3.3	31	47.2	8.2	31	12.2	3.2
32	62.7	7.2	32	11.2	2.9	32	48.8	7.3	32	11.9	3.1
33	57.8	7.0	33	12.6	3.1	33	46.4	6.8	33	12.7	3.4
34	46.1	6.5	34	11.4	3.2	34	49.8	6.5	34	14.1	3.4
35	46.6	6.6	35	12.0	3.1	35	47.5	7.3	35	14.9	3.7
36	51.2	6.7	36	13.9	2.9	36	46.1	7.5	36	13.7	3.5
37	61.9	7.1	37	11.3	2.8	37	54.7	7.4	37	14.0	3.4
38	56.1	6.9	38	13.1	3.3	38	50.2	7.4	38	14.5	3.3
39	58.2	6.9	39	15.4	3.4	39	46.8	7.4	39	12.6	3.1
40	55.6	6.7	40	14.6	3.6	40	59.0	7.1	40	13.5	3.0
41	55.4	7.6	41	15.6	3.4	41	46.2	6.7	41	13.8	3.1
42	54.1	7.4	42	14.8	3.3	42	52.3	7.5	42	11.4	3.3
43	56.9	7.3	43	14.6	3.3	43	45.1	8.0	43	13.3	3.2
44	55.7	6.7	44	14.1	3.3	44	48.3	7.0	44	14.3	3.5
45	48.8	6.7	45	13.9	3.0	45	50.2	7.8	45	14.5	3.1
46	49.5	7.5	46	13.5	3.4	46	42.4	6.6	46	11.6	3.2
47	53.1	6.3	47	13.6	3.4	47	53.3	8.1	47	12.9	3.0
48	55.7	7.2	48	13.2	3.0	48	47.6	7.6	48	11.3	3.4
49	51.5	7.2	49	12.4	3.2	49	46.4	7.1	49	12.4	3.3
50	61.3	7.2	50	14.3	3.2	50	49.5	7.7	50	14.1	3.3
$\bar{x}$	51.86	7.0	$\bar{x}$	13.23	3.2	$\bar{x}$	49.62	7.2	$\bar{x}$	12.85	3.2

Anexo 13. Dimensiones de las estructuras sexuales de los aislamientos M21 y M22.

M 21 Ascas			M 21 Ascosporas			M 22 Ascas			M 22 Ascosporas		
N°	Largo	Ancho	N°	Largo	Ancho	N°	Largo	Ancho	N°	Largo	Ancho
1	45.8	6.7	1	14.1	3.1	1	45.8	6.5	1	12.6	3.5
2	48.2	6.7	2	12.8	3.4	2	56.1	7.4	2	12.9	3.3
3	45.7	6.5	3	12.9	3.1	3	50.1	7.5	3	11.9	3.5
4	48.8	6.6	4	13.4	3.3	4	53.1	7.2	4	11.8	4.3
5	49.1	8.5	5	12.1	3.3	5	46.9	6.8	5	12.3	4.0
6	46.5	7.0	6	12.6	3.2	6	50.2	7.1	6	12.3	3.2
7	48.8	7.8	7	12.2	3.2	7	47.5	7.8	7	12.2	3.3
8	42.8	7.3	8	14.7	3.3	8	48.3	7.3	8	11.9	3.3
9	49.8	7.5	9	11.0	3.1	9	49.6	7.4	9	13.5	4.0
10	64.0	7.6	10	13.1	3.1	10	49.2	7.6	10	13.5	3.5
11	55.8	6.9	11	15.4	3.1	11	44.3	7.5	11	11.6	3.3
12	61.6	7.9	12	12.7	3.3	12	42.9	8.4	12	11.8	3.2
13	58.8	7.3	13	12.1	3.1	13	40.0	7.6	13	11.8	3.1
14	59.3	7.3	14	13.3	3.2	14	46.0	7.9	14	12.8	3.0
15	62.1	7.2	15	14.6	3.4	15	54.3	7.5	15	13.1	3.1
16	60.8	7.9	16	13.7	3.3	16	55.0	7.7	16	11.6	3.1
17	57.4	7.4	17	13.1	3.0	17	54.6	7.5	17	12.4	3.4
18	54.4	6.9	18	11.8	3.2	18	51.4	7.6	18	13.0	3.1
19	57.8	7.4	19	12.2	3.1	19	46.1	7.9	19	13.5	3.5
20	47.3	7.5	20	14.9	3.4	20	49.5	7.8	20	12.3	3.3
21	45.6	7.7	21	14.3	3.4	21	51.4	7.5	21	11.3	3.5
22	45.9	7.9	22	13.9	3.1	22	47.2	7.6	22	13.7	3.1
23	49.0	8.6	23	12.6	3.1	23	51.8	7.2	23	12.0	3.1
24	45.2	8.5	24	12.7	3.3	24	49.5	7.6	24	12.1	3.4
25	55.4	7.6	25	11.9	3.4	25	49.1	7.7	25	11.2	3.2
26	48.2	8.5	26	11.3	3.0	26	50.5	7.8	26	13.9	3.2
27	58.0	7.3	27	12.7	3.4	27	47.2	7.1	27	15.2	3.3
28	54.1	8.2	28	13.1	3.5	28	44.4	7.4	28	13.9	3.3
29	48.9	7.8	29	11.4	3.5	29	52.5	7.8	29	14.0	3.0
30	55.5	7.7	30	15.5	3.4	30	58.8	7.0	30	13.1	3.1
31	42.4	8.1	31	15.1	3.4	31	52.2	7.1	31	12.1	3.1
32	44.5	7.0	32	14.5	3.3	32	55.3	8.1	32	12.0	3.0
33	40.4	7.4	33	14.1	3.5	33	55.1	7.5	33	12.4	3.2
34	42.2	7.2	34	13.9	3.2	34	60.5	7.3	34	13.0	3.1
35	46.7	7.9	35	15.3	3.3	35	47.8	7.1	35	11.9	3.3
36	41.9	6.5	36	12.5	3.3	36	50.8	7.7	36	14.5	3.0
37	40.8	7.3	37	13.6	3.3	37	58.9	7.4	37	13.8	3.3
38	52.2	7.9	38	11.8	3.1	38	63.1	7.3	38	11.5	3.1
39	42.2	8.2	39	13.6	3.5	39	41.3	7.0	39	12.8	3.1
40	42.4	7.1	40	14.7	3.4	40	50.8	9.7	40	14.0	3.1
41	40.8	7.1	41	13.8	3.3	41	46.7	9.6	41	14.3	3.2
42	40.2	7.0	42	13.1	3.5	42	53.5	8.0	42	13.8	2.9
43	58.4	7.3	43	14.2	3.0	43	46.7	6.8	43	13.7	3.2
44	51.8	7.2	44	13.3	3.5	44	42.2	6.7	44	14.2	4.0
45	59.9	7.6	45	12.0	3.0	45	51.3	8.1	45	12.8	4.0
46	55.3	7.5	46	12.2	3.1	46	54.5	7.2	46	14.1	2.9
47	58.4	7.8	47	13.0	3.3	47	51.8	7.3	47	15.3	4.0
48	57.3	7.1	48	13.5	3.2	48	54.7	6.8	48	11.6	3.5
49	45.5	7.3	49	14.4	3.3	49	47.1	7.2	49	15.2	3.0
50	52.4	7.5	50	12.7	3.1	50	56.5	7.5	50	14.6	3.2
$\bar{x}$	50.53	7.5	$\bar{x}$	13.27	3.3	$\bar{x}$	50.48	7.5	$\bar{x}$	12.94	3.3

**UNSC**FACULTAD DE CIENCIAS
AGRARIAS

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS
Bach. YEN ELIDA NOLASCO SULCA
R.D. N° 069-2026-UNSCH-FCA-D

En la ciudad de Ayacucho, a los ocho días del mes de mayo del año dos mil veintiséis, siendo las once con treinta horas, se reunieron en el auditorio de la Facultad de Ciencias Agrarias, bajo la presidencia del Dr. Felipe Escobar Ramírez Decano de la Facultad de Ciencias Agrarias; los miembros del jurado conformado por el Ph.D. Nery Luz Santillana Villanueva, M.Sc. Angela Juana Requis Quintanilla como asesora y el Ing. Guillermo Carrasco Aquino; actuando como secretario de actas el Mtro. Rodolfo Alca Mendoza, para recibir la sustentación de la Tesis titulado: **Etiología e identificación molecular del agente causal de la antracnosis en anona (*Rollinia mucosa* (Jacq) Baill), Ayacucho-2025**, para obtener el Título Profesional de Ingeniera Agrónoma, presentado por la Bachiller **YEN ELIDA NOLASCO SULCA**.

El señor Decano previa verificación de los documentos exigidos solicitó se proceda con la sustentación y posterior defensa de la tesis en un periodo de cuarenta y cinco minutos de acuerdo al reglamento de grados y títulos vigente. Terminado la exposición, los miembros del Jurado, formularon sus preguntas, aclaraciones y/o observaciones correspondientes. Luego se invito a los miembros del jurado pasar a otra aula para la deliberación y calificación del trabajo de tesis, teniendo el siguiente resultado:

Jurado evaluador	Exposición	Respuestas a las preguntas	Generación de conocimiento	Promedio
Ph.D. Nery Luz Santillana Villanueva	16	16	16	16
M.Sc. Angela Juana Requis Quintanilla	18	16	18	17
Ing. Guillermo Carrasco Aquino	15	14	15	15
PROMEDIO GENERAL				16

Acto seguido se invita a la sustentante y público en general para dar a conocer el resultado final. Firman el acta.


.....
Ph.D. Nery Luz Santillana Villanueva
Presidente


.....
M.Sc. Angela Juana Requis Quintanilla
Asesora


.....
Ing. Guillermo Carrasco Aquino
Jurado


.....
Mtro. Rodolfo Alca Mendoza
Secretario Docente

**UNSCH**FACULTAD DE CIENCIAS
AGRARIAS

CONSTANCIA DE CONTROL DE ORIGINALIDAD DE TRABAJO DE TESIS

El que suscribe, miembro de la comisión de docentes instructores responsables de operativizar, verificar, garantizar y controlar la originalidad de los trabajos de **TESIS** de la Facultad de Ciencias Agrarias, de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, autorizado por la R.D N° 213-2025-UNSCH-FCA-D; hace constar que el trabajo titulado:

Etiología e identificación molecular del agente causal de la antracnosis en anona (*Rollinia mucosa* (Jacq) Baill), Ayacucho - 2025.

Autor : Yen Elida Nolasco Sulca
Asesor : Angela Juana Requis Quintanilla

Ha sido sometido al control de originalidad mediante el software TURNITIN UNSCH, acorde al Reglamento de originalidad de trabajos de tesis, aprobando mediante de RCU 039-2021-UNSCH-CU, arrojando un resultado de ocho por ciento **(8%)** de índice de similitud, realizado con **depósito de trabajo estándar**.

En consecuencia, se otorga la presente Constancia de Originalidad para los fines pertinentes.

Nota: Se adjunta el resultado con identificador de la entrega: 2995000685

Ayacucho, 07 de julio de 2026

Angela J. Requis Quintanilla

M.Sc. en Fitopatología
E.P. Agronomía

Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga

Etiología e identificación molecular del agente causal de la antracnosis en anona (*Rollinia mucosa* (Jacq) Baill), Ayacucho - 2025.

por Yen Elida Nolasco Sulca

Fecha de entrega: 07-jul-2026 10:22p. m. (UTC-0500)

Identificador de la entrega: 2995000685

Nombre del archivo: TESIS-ELIDA.pdf (4.8M)

Total de palabras: 26891

Total de caracteres: 120594

Etiología e identificación molecular del agente causal de la antracnosis en anona (Rollinia mucosa (Jacq) Baill), Ayacucho - 2025.

INFORME DE ORIGINALIDAD

8%

INDICE DE SIMILITUD

9%

FUENTES DE INTERNET

1%

PUBLICACIONES

4%

TRABAJOS DEL ESTUD

FUENTES PRIMARIAS

1

Submitted to Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga

Trabajo del estudiante

2

repositorio.unsch.edu.pe

Fuente de Internet

3

dspace.ucuenca.edu.ec

Fuente de Internet

4

colposdigital.colpos.mx:8080

Fuente de Internet

5

docslib.org

Fuente de Internet

6

livrosdeamor.com.br

Fuente de Internet

7

repositorio.undac.edu.pe

Fuente de Internet

8

ru.dgb.unam.mx

Fuente de Internet

9

www.cm-loures.pt

Fuente de Internet

10

dspace.unl.edu.ec

Fuente de Internet

Excluir citas

Excluir bibliografía

Activo

Activo

Excluir coincidencias

< 30 words

Etiología e identificación molecular del agente causal de la antracnosis en anona (*Rollinia mucosa* (Jacq) Baill), Ayacucho-2025.

Etiology and Molecular Identification of the Causal Agent of Anthracnose in Annona (*Rollinia mucosa* (Jacq.) Baill), Ayacucho–2025

Yen Elida Nolasco Sulca¹
yen.nolasco.01@unsch.edu.pe

Angela Juana Requis Quintanilla²
angela.requis@unsch.edu.pe

Área de investigación: Fitopatología agrícola
Lineal de investigación: Conservación y valoración de la biodiversidad

RESUMEN

La antracnosis es una enfermedad fúngica caracterizada por producir lesiones necróticas en los tejidos de las plantas. El género *Colletotrichum* es considerado un patógeno de importancia debido a su capacidad para infectar una amplia variedad de hospedantes. Aunque diversas especies de la familia Annonaceae son altamente susceptibles a esta enfermedad, existe poca información sobre las enfermedades que afectan a la anona (*Rollinia mucosa*). En este estudio se realizó la caracterización morfológica, molecular y la prueba de patogenicidad del agente causal de la antracnosis en anona. Para la caracterización morfológica se evaluaron variables microscópicas (largo, ancho y forma de los conidios) y macroscópicas (color de la colonia, tipo de micelio y tasa de crecimiento). La caracterización molecular se efectuó mediante PCR utilizando cebadores universales de ITS (ITS1 e ITS4). Se realizaron aislamientos a partir de 50 frutos recolectados en el distrito de Kimbiri, región Cusco, Perú, obteniéndose 25 aislamientos puros para su análisis posterior. Con base en las características morfológicas, moleculares y los resultados de la prueba de patogenicidad, se determinó que los patógenos responsables de la antracnosis en frutos de anona en Kimbiri corresponden al Género *Colletotrichum* y las especies identificadas mediante prueba molecular fueron: *Colletotrichum alienum* y *Colletotrichum aeshynomenes*.

Palabras clave: Antracnosis, *Rollinia mucosa*, *Colletotrichum alienum*, *Colletotrichum aeshynomenes*, caracterización molecular.

ABSTRACT

Anthrachnose is a fungal disease characterized by producing necrotic lesions in plant tissues. The genus *Colletotrichum* is considered an important pathogen due to its ability to infect a wide variety of hosts. Although several species of the family Annonaceae are highly susceptible to this disease, there is little information about the diseases affecting anona (*Rollinia mucosa*). In this study, morphological and molecular characterization, as well as pathogenicity tests of the causal agent of anthracnose in anona, were carried out. For morphological characterization, microscopic variables (length, width, and shape of conidia) and macroscopic variables (colony color, type of mycelium, and growth rate) were evaluated. Molecular characterization was performed by PCR using universal ITS primers (ITS1 and ITS4). Isolations were made from 50 fruits collected in the district of Kimbiri, Cusco region, Peru, obtaining 25 pure isolates for further analysis. Based on morphological characteristics, molecular characterization, and pathogenicity test results, it was determined that the pathogens responsible for anthracnose in anona fruits in Kimbiri correspond to the genus *Colletotrichum*, and the species identified by molecular testing were: *Colletotrichum alienum* and *Colletotrichum aeshynomenes*.

Keywords: Anthracnose, *Rollinia mucosa*, *Colletotrichum alienum*, *Colletotrichum aeshynomenes*, molecular characterization.

INTRODUCCIÓN

La anona (*Rollinia mucosa* (Jacq.) Baill.) pertenece a la familia Annonaceae y es considerada una especie nativa de América tropical, posiblemente de origen amazónico. Su distribución comprende varios países de la región, entre ellos Brasil, Colombia, Ecuador, Perú, Venezuela, Guayana, México y Argentina. En el Perú, el cultivo de la anona se encuentra principalmente en los departamentos de Loreto, San Martín, Ucayali, Amazonas, Huánuco y Cusco, donde se desarrolla bajo condiciones climáticas favorables de la selva alta y baja (Flores, 1997; Love & Paull, 2011). Este cultivo posee importancia en distintos ámbitos, como la medicina, los derivados nutraceuticos y la gastronomía (Gutsche et al., 2008; Granda, 2025; Vásquez & Fetta, 2023).

La antracnosis es una enfermedad causada principalmente por hongos del género *Colletotrichum*, caracterizada por la producción de lesiones necróticas en los tejidos afectados (Velázquez et al., 2018). Este patógeno presenta una alta capacidad de

infección, lo que le permite atacar una amplia variedad de hospedantes (Rojo et al., 2017). Debido a su alto impacto económico y relevancia científica, *Colletotrichum* ha sido clasificado entre los diez patógenos vegetales más importantes a nivel global (Dean et al., 2012).

Diversas especies del género *Colletotrichum* han sido reportadas como agentes causales de antracnosis en distintos miembros de la familia Annonaceae. Entre ellas, *C. fragariae*, *C. gloeosporioides* y *C. orbiculare* han sido identificadas en frutos de *Annona cherimola* (Villanueva et al., 2008); *C. siamense* en frutos de *Annona scleroderma* (Salinas et al., 2020); y *C. fructicola* en frutos de *Annona squamosa* (Fan et al., 2025). Sin embargo, la información específica sobre las enfermedades que afectan a *Rollinia mucosa* es aún limitada.

La identificación integral de patógenos, basada en la caracterización morfológica y el análisis molecular, permite obtener diagnósticos confiables, lo que contribuye al establecimiento de estrategias de control más eficaces (Rojo et al., 2017).

Por lo tanto, el objetivo de la presente investigación fue identificar el agente causal de la antracnosis en anona (*Rollinia mucosa* (Jacq.) Baill) mediante caracterización morfológica y análisis molecular.

MATERIALES Y MÉTODOS

Ubicación

El presente trabajo de investigación se desarrolló en dos fases. La fase de campo se realizó en el distrito de Kimbiri, provincia de La Convención, departamento de Cusco. La segunda fase se realizó en el laboratorio de Fitopatología de la Escuela Profesional de Agronomía de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Asimismo, los análisis moleculares se llevaron a cabo en el laboratorio de la empresa Umbrella Genomics, ubicado en el distrito de Lince, Lima-Perú.

Colección de muestras

Se llevó a cabo en áreas de cultivo de anona ubicadas en el distrito de Kimbiri. En total, se colectaron 50 muestras de frutos en estado verde, provenientes de huertos que presentaban síntomas visibles de la enfermedad, como lesiones necróticas. Las muestras fueron colocadas en bolsas de papel debidamente etiquetadas con la información correspondiente y posteriormente trasladadas al laboratorio para su análisis.

Aislamiento de Colletotrichum

En el laboratorio, las muestras fueron sometidas a un protocolo de desinfección que consistió en el lavado con agua, inmersión en hipoclorito de sodio al 2% durante 5 minutos, enjuague tres veces con agua estéril y secado con papel toalla estéril. Posteriormente, las muestras se colocaron en cámaras húmedas a temperatura ambiente por un periodo de 5 a 12 días.

Transcurrido este tiempo, las muestras que presentaron esporulación fueron sembradas en placas de Petri con medio Papa Dextrosa Agar (PDA). Luego de cinco días de incubación a 25 °C, se observó el desarrollo de los aislados. Se realizaron montajes microscópicos, para lo cual se usó lactofenol azul y láminas porta y cubre objetos para luego ser observado en el microscopio. Finalmente, los aislados seleccionados fueron purificados e incubados nuevamente a 25 °C.

Caracterización morfológica

Para la identificación del género se emplearon las claves taxonómicas de Barnett y Hunter (1998), así como diversas publicaciones científicas. Se evaluaron características macroscópicas, como el color de la colonia, tipo de micelio y la tasa de crecimiento, y características microscópicas, como el tamaño y la forma de los conidios.

El tamaño de los conidios se determinó mediante la medición de 50 conidios maduros, observados en un microscopio con pantalla de la línea BioBlue a 40x, registrándose la longitud y el ancho de cada conidia. La forma de los conidios se determinó mediante observación microscópica directa a 40x. El color de la colonia y el tipo de micelio se determinó mediante observación directa en cultivo.

La tasa de crecimiento se determinó mediante el registro diario del desarrollo micelial hasta que el hongo cubrió completamente la placa de Petri, realizando las mediciones con una regla graduada.

Caracterización molecular

Para la caracterización molecular se seleccionaron aislados representativos previamente identificados mediante caracterización morfológica. La extracción de ADN se realizó utilizando el kit NucleoSpin® Microbial DNA (Macherey-Nagel). Se emplearon los iniciadores universales ITS1 e ITS4, dirigidos al gen ITS (Internal Transcribed Spacer). El secuenciamiento se realizó mediante el método Sanger. Las secuencias obtenidas

fueron comparadas con la base de datos del NCBI (National Center for Biotechnology Information) mediante el algoritmo BLAST.

Prueba de patogenicidad

Se realizó en frutos sanos de anona en estado verde y maduro, utilizando aislados puros. Se utilizaron 2 frutos verdes y 2 frutos maduros por aislamiento, mientras que un fruto verde y uno maduro se emplearon como testigos.

Los frutos se lavaron con agua corriente, se desinfectaron con una solución de hipoclorito de sodio al 2 % durante cinco minutos, se enjuagaron tres veces con agua estéril (dos minutos cada uno) y finalmente se secaron con papel toalla estéril.

La inoculación se realizó mediante el método de herida, utilizando un estilete estéril. En cada fruto se marcaron 5 puntos en los cuales se realizaron las heridas y se transfirieron discos de PDA con crecimiento del patógeno. En los frutos testigo únicamente se realizaron heridas, sin aplicación del inóculo.

Los frutos inoculados fueron colocados en cámaras húmedas a temperatura ambiente. Entre los cinco y doce días posteriores a la inoculación, se evaluó la incidencia de la enfermedad y se registraron los síntomas observados. Finalmente, se realizaron montajes de tejidos infectados para confirmar la identidad del agente causal.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Aislamiento del agente causal de la antracnosis en anona

Los frutos verdes de anona que presentaron lesiones necróticas en forma de manchas negras (Figura 3.1 a–b), al ser inducidos a esporulación mediante cámara húmeda, desarrollaron masas conidiales de tonalidades salmón y naranja sobre el tejido infectado y el pedúnculo (Figura 3.1 c–d). A partir de estas estructuras se obtuvieron 25 aislamientos puros pertenecientes al género *Colletotrichum*.

Estos resultados concuerdan con lo reportado por diversos autores, quienes han señalado que especies de *Colletotrichum* aisladas de frutos de anonáceas provocan la aparición de manchas oscuras (Álvarez & Tenesaca, 2022; Álvarez et al., 2014; Fan et al., 2025; Hernandez, 2024; Salinas et al., 2020). De manera similar, Villanueva et al. (2008) describieron en frutos de chirimoya la presencia de manchas negras irregulares acompañadas de masas conidiales de color salmón a naranja. Asimismo, el pedúnculo presentó síntomas de pudrición junto con estructuras conidiales de la misma tonalidad.

Figura 3.1

Síntomas y esporulación del patógeno en frutos de anona



Nota. A-B. Lesiones necróticas en frutos verdes de anona colectados del campo. C-D. Esporulación de color salmón a naranja en frutos y pedúnculo después de ser incubados en cámara húmeda.

Identificación de las características morfológicas del género

Aislamientos del Grupo I

Los aislamientos M1, M2, M3, M23, M24 y M25 presentaron características morfológicas similares, diferenciándose únicamente por ligeras variaciones en el tamaño de los conidios; por ello, se agruparon para su descripción morfológica.

Las colonias presentaron una coloración blanca y una textura moderadamente algodonosa, con masas conidiales de tono naranja distribuidas en el centro y dispuestas de forma circular (Figura 3.12 a–b). Estas características coinciden con las descritas por Villanueva et al. (2008), quienes observaron colonias blancas con masas conidiales de color naranja en distintas especies del género *Colletotrichum*. De manera similar, Álvarez y Tenesaca (2022) reportaron colonias blancas con textura moderadamente algodonosa, mientras que Álvarez et al. (2014) y Xavier (2018) describieron texturas algodonosas y tonalidades que variaron de blanco a gris claro. Asimismo, las colonias cubrieron toda la placa en un período de 9 días, con una tasa promedio de crecimiento de 0.55 cm/día.

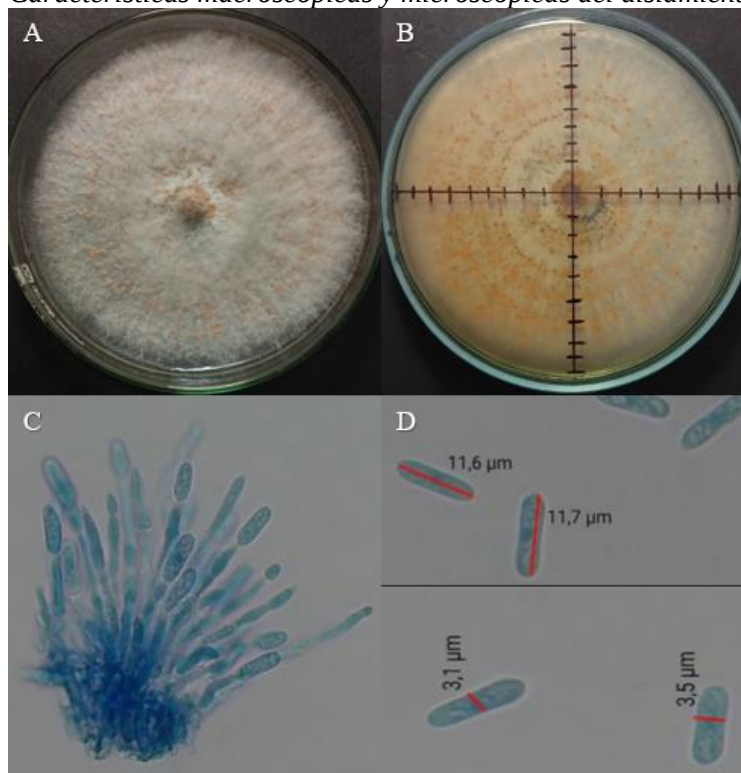
Microscópicamente, los aislamientos analizados presentaron conidios hialinos, cilíndricos, con extremos redondeados y un tamaño promedio de $11.64\text{--}13.42 \times 3.0\text{--}3.3$

μm , además de conidióforos simples y alargados (Figuras 3.12 c-d y 3.13). Xavier (2018) reportó que los conidios de *C. gloeosporioides* son hialinos, cilíndricos, aseptados y con extremos redondeados, con dimensiones de $12\text{--}15 \times 3\text{--}5 \mu\text{m}$. De manera similar, Álvarez et al. (2014) observaron conidios cilíndricos de $12.5\text{--}13.75 \times 3.12\text{--}3.75 \mu\text{m}$ en *C. gloeosporioides*, mientras que *C. tropicale* presentó medidas ligeramente menores ($11.25\text{--}12.51 \times 3.75\text{--}4.38 \mu\text{m}$). Asimismo, Villanueva et al. (2008) describieron conidios hialinos, aseptados y cilíndricos, y Álvarez y Tenesaca (2022) señalaron la presencia de extremos redondeados. En términos generales, Barnett y Hunter (1998) indicaron que el género *Colletotrichum* se caracteriza por producir conidios unicelulares e hialinos, sostenidos por conidióforos simples y alargados.

Sin embargo, las dimensiones registradas en el presente estudio fueron ligeramente menores a las reportadas por algunos autores. Esta variación podría estar influenciada por el hospedante y las condiciones de cultivo (Barquero et al., 2013; Pérez et al., 2003).

Figura 3.12

Características macroscópicas y microscópicas del aislamiento M25



Nota. A-B. Placas de cultivo que muestran el crecimiento de la colonia M25, en su vista frontal y reverso. Observación microscópica de las estructuras de M25 con objetivo 40x: C. Conidióforos. D. Dimensiones de los conidios.

Figura 3.13

Conidias del aislamiento M25



Nota. Observación microscópica de las conidias de M25 con objetivo 40x.

Aislamientos del Grupo II

Los aislamientos M4, M5, M6, M7, M8, M9 y M10 presentaron características morfológicas similares, con ligeras variaciones en el tamaño de los conidios y en la tasa de crecimiento, por lo que fueron agrupados para su descripción morfológica.

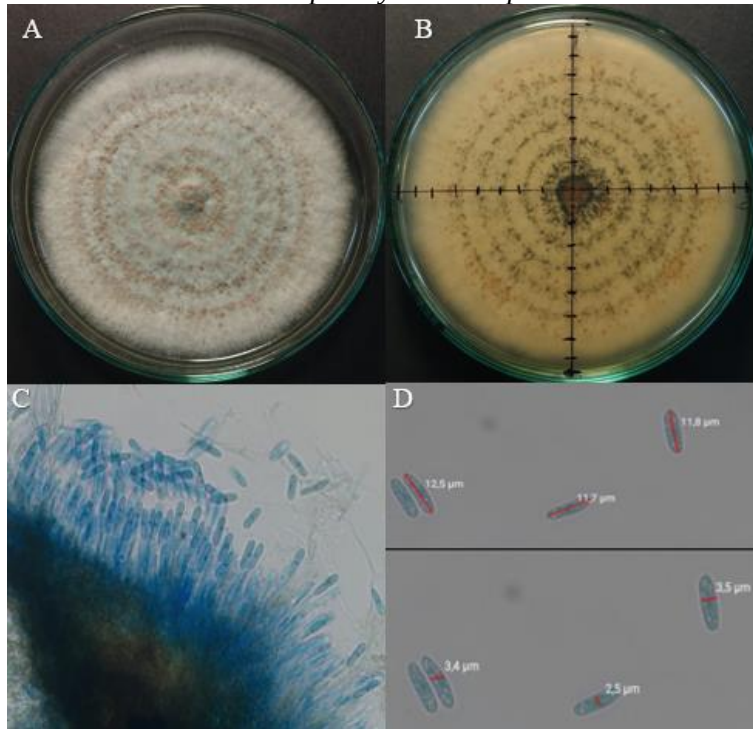
Las colonias presentaron un color blanco y textura moderadamente algodonosa, con masas conidiales de color naranja distribuidas en círculos concéntricos, acompañadas de esclerocios, los cuales se presentaron como estructuras negras y amorfas (Figura 3.14 a-b). De acuerdo con Villanueva et al. (2005), las colonias de *Colletotrichum* se caracterizan por presentar tonalidades anaranjadas asociadas a las masas de conidios y por desarrollar micelio aéreo. Asimismo, estos autores reportaron la formación de esclerocios, asociados al patrón de crecimiento en círculos concéntricos. De manera similar, Álvarez y Tenesaca (2022) describieron colonias blancas con textura moderadamente algodonosa, mientras que Hernandez (2024) reportó colonias de *Colletotrichum* de color blanco a anaranjado y textura algodonosa. Asimismo, las colonias cubrieron toda la placa en un período de 8 días, con una tasa promedio de crecimiento entre 0.61- 0.63 cm/día.

Microscópicamente, se observaron conidios hialinos, cilíndricos, con extremos redondeados, de tamaño promedio entre $11.81\text{--}12.57 \times 3.1\text{--}3.5 \mu\text{m}$. Además, presentaron conidióforos simples y alargados (Figuras 3.14 c-d y 3.15). Estas características morfológicas coinciden con lo reportado para especies de *Colletotrichum*, que presentan conidios hialinos, cilíndricos y con extremos redondeados (Hernandez, 2024; Kamei

et al., 2014; Villanueva et al., 2005). Sin embargo, se observaron variaciones en las dimensiones, ya que Hernández (2024) reportó medidas ligeramente menores ($7.72\text{--}11.92 \times 2.5\text{--}4.49 \mu\text{m}$), mientras que Kamei et al. (2014) describieron conidios con dimensiones promedio de $12.4 \times 5.1 \mu\text{m}$.

Figura 3.14

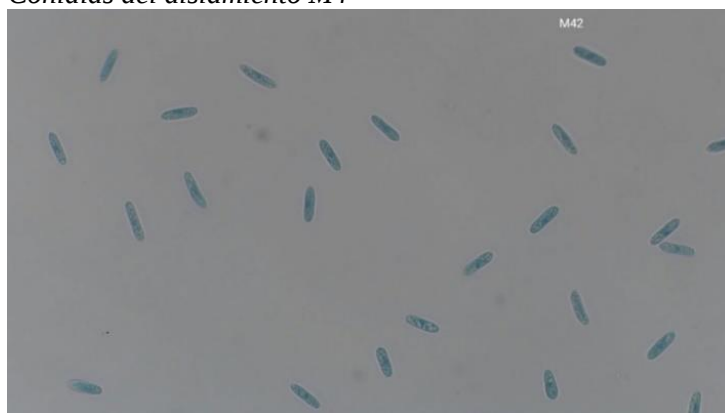
Características macroscópicas y microscópicas del aislamiento M4



Nota. A-B. Placas de cultivo que muestran el crecimiento de la colonia M4, en su vista frontal y reverso. Observación microscópica de las estructuras de M4 con objetivo 40x: C. Conidióforos. D. Dimensiones de los conidios.

Figura 3.15

Conidias del aislamiento M4



Nota. Observación microscópica de las conidias de M4 con objetivo 40x.

Aislamientos del Grupo III

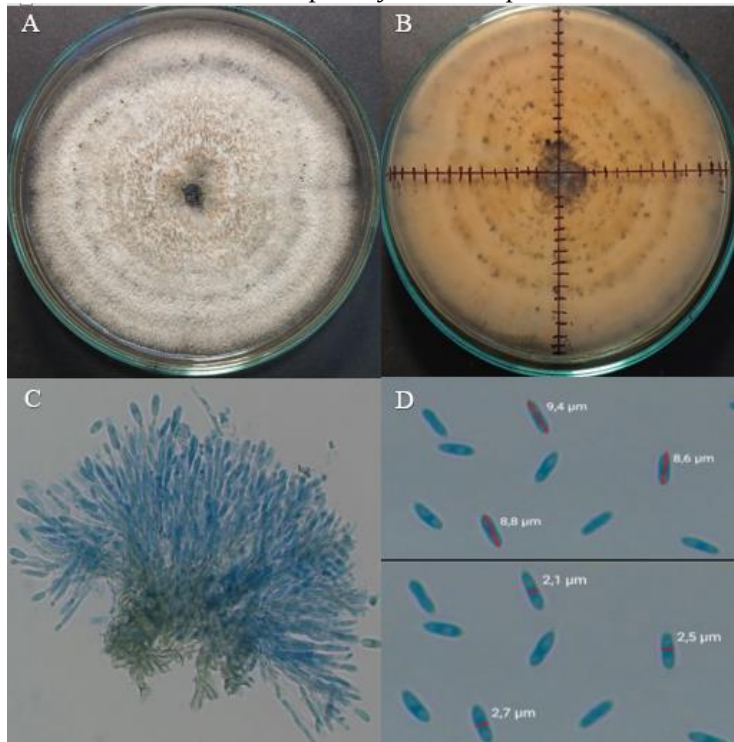
Los aislamientos M11, M12, M13, M17, M18 y M19 presentaron características morfológicas similares, con ligeras variaciones en el tamaño de los conidios y en la tasa de crecimiento, por lo que fueron agrupados para su descripción morfológica.

Las colonias presentaron un color blanco a gris y textura moderadamente algodonosa, con masas conidiales de color salmón distribuidas en el centro y en anillos concéntricos irregulares, acompañadas de esclerocios (Figura 3.32 a-b). De manera similar, diversos estudios han reportado que las especies del género *Colletotrichum* muestran variabilidad en la coloración de las colonias, que puede ir de blanco a salmón pálido, blanco grisáceo o gris, y generalmente de textura algodonosa (Álvarez et al., 2014; Hernandez, 2024; Salinas et al., 2020). Por otro lado, Fan et al. (2025) reportaron la formación de anillos concéntricos como parte del patrón de crecimiento de colonias de *C. fructicola*, coincidiendo con lo observado en el presente estudio. Asimismo, las colonias cubrieron toda la placa en un período de 13 a 15 días, con una tasa promedio de crecimiento entre 0.33- 0.35 cm/día.

Microscópicamente, se observaron conidios hialinos y fusiformes, de tamaño promedio entre $9.24\text{--}10.16 \times 2.5\text{--}2.7 \mu\text{m}$. Además, presentaron conidióforos simples y alargados (Figuras 3.32 c-d y 3.33). De manera similar, Salinas et al. (2020) describieron conidios hialinos y principalmente fusiformes, con tamaños que oscilaron entre 8-17 μm de longitud y 3-4.5 μm de ancho, lo que coincide parcialmente con las dimensiones observadas en este estudio.

Figura 3.32

Características macroscópicas y microscópicas del aislamiento M13



Nota. A-B. Placas de cultivo que muestran el crecimiento de la colonia M13, en su vista frontal y reverso. Observación microscópica de las estructuras de M13 con objetivo 40x: C. Conidióforos. D. Dimensiones de los conidios.

Figura 3.33

Conidias del aislamiento M13



Nota. Observación microscópica de las conidias de M13 con objetivo 40x.

Aislamientos del Grupo IV

Los aislamientos M14, M15, M16, M20, M21 y M22 presentaron características morfológicas similares, con ligeras variaciones en el tamaño de los conidios y en la tasa de crecimiento, por lo que fueron agrupados para su descripción morfológica.

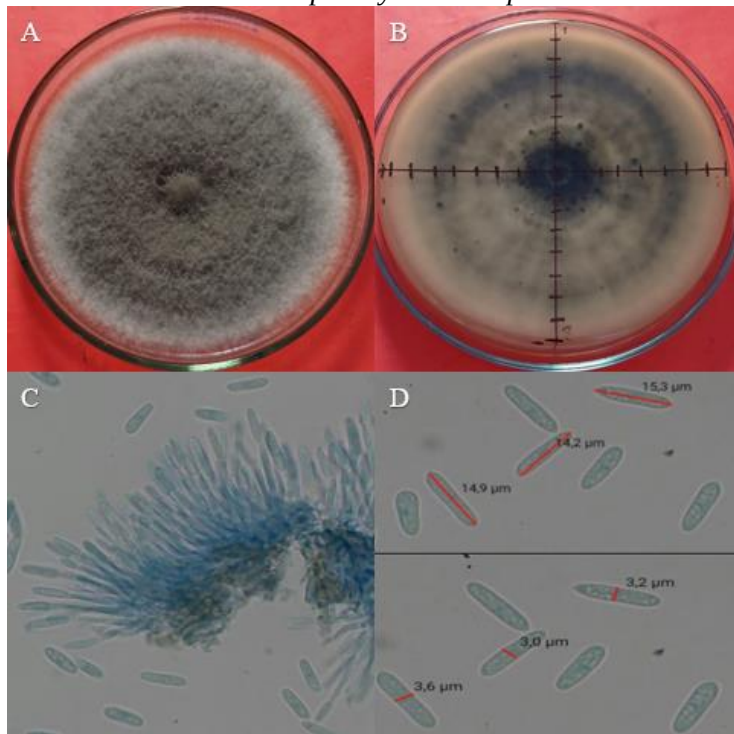
Las colonias presentaron un color verde grisáceo, con margen blanco y textura abundantemente algodonosa, con masas conidiales de color salmón distribuidas en el centro y en anillos concéntricos (Figura 3.43 a-b). Las características observadas coinciden con las reportadas para especies de *Colletotrichum*. Fan et al. (2025) describieron en *C. fructicola* variación en la coloración de las colonias (de blanco a verde grisáceo), formación de anillos concéntricos y producción de masas conidiales de tonalidad naranja claro. De manera similar, Álvarez y Tenesaca (2022) reportaron colonias de coloración gris oscura y textura abundantemente algodonosa, mientras que Villanueva et al. (2008) observaron tonalidades que variaron de blanco a gris olivo, con masas conidiales de color salmón. Además, las colonias cubrieron toda la placa en un período de 8 a 9 días, con una tasa promedio de crecimiento de 0.59- 0.63 cm/día.

Microscópicamente, se observaron conidios hialinos, cilíndricos, con extremos redondeados, de tamaño promedio entre $14.38\text{--}15.03 \times 2.9\text{--}3.3 \mu\text{m}$. Además, presentaron conidióforos simples y alargados (Figuras 3.43 c-d y 3.44). De acuerdo con Fan et al. (2025), los conidios presentaron forma cilíndrica, con dimensiones de $11.09\text{--}20.02 \times 4.06\text{--}6.54 \mu\text{m}$. Características similares han sido reportadas en especies de *Colletotrichum*. Álvarez et al. (2014) describieron conidios de *C. theobromicola* como cilíndricos, a veces con ligero estrechamiento hacia la base, con longitudes de $14.37\text{--}24.4 \mu\text{m}$ y anchos de $2.81\text{--}5.62 \mu\text{m}$, mientras que Xavier (2018) reportó conidios hialinos, cilíndricos, con extremos redondeados y dimensiones de $12\text{--}15 \times 3\text{--}5 \mu\text{m}$ en *C. gloeosporioides*.

Estos aislamientos también presentaron estructuras sexuales, conformadas por peritecios oscuros, ascas y ascosporas hialinas. Las ascas mostraron un tamaño promedio de $44.58\text{--}56.59 \times 6.1\text{--}7.5 \mu\text{m}$, mientras que las ascosporas midieron entre $12.85\text{--}13.50 \times 3.2\text{--}3.5 \mu\text{m}$, siendo fusiformes y ligeramente curvadas (Figura 3.42). De manera similar, Villanueva et al. (2008) reportaron que *C. gloeosporioides* produjo peritecios de color café oscuro, esféricos e inmersos en PDA, los cuales generaron ascosporas hialinas, unicelulares, curvadas y fusiformes, características correspondientes a su estado sexual (*Glomerella cingulata*). Por otra parte, Janick y Paull (2008) asociaron a *Glomerella cingulata* con la muerte regresiva de tallos y la pudrición de los frutos de anona.

Figura 3.43

Características macroscópicas y microscópicas del aislamiento M15



Nota. A-B. Placas de cultivo que muestran el crecimiento de la colonia M15, en su vista frontal y reverso. Observación microscópica de las estructuras de M15 con objetivo 40x: C. Conidióforos. D. Dimensiones de los conidios.

Figura 3.44

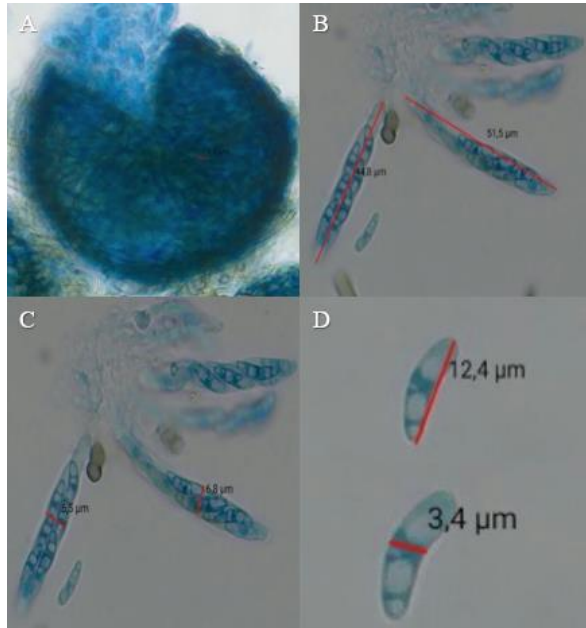
Conidias del aislamiento M15



Nota. Observación microscópica de las conidias de M15 con objetivo 40x.

Figura 3.42

Estructuras sexuales del aislamiento M14



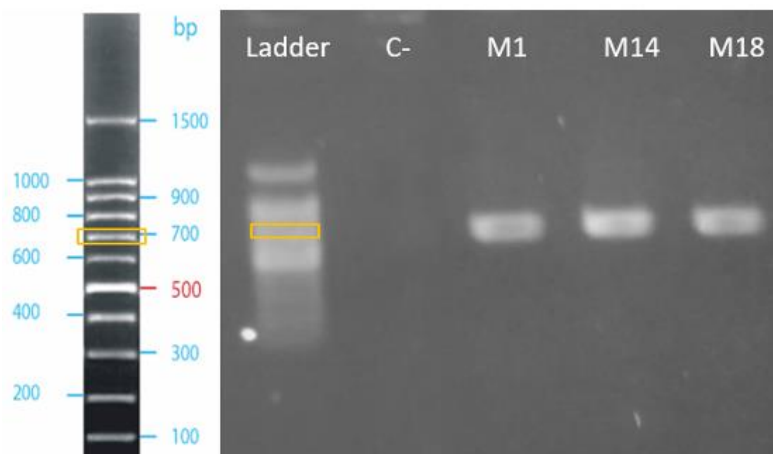
Nota. Observación microscópica de M14 con objetivo 40x. A. Peritecio oscuro liberando ascas. B-C. Dimensiones de las ascas. D. Dimensiones de las ascosporas.

Identificación molecular del género y especie

El ADN extraído de los aislamientos de *Colletotrichum* (M1, M14 y M18) fue amplificado mediante PCR utilizando cebadores específicos para la región ITS (ITS1-ITS4). Los productos amplificados fueron visualizados mediante electroforesis en gel de agarosa al 1,5 % utilizando buffer TAE.

Figura 3.58

Electroforesis en gel de agarosa al 1,5 % de productos amplificados por PCR del gen ITS en aislamientos de Colletotrichum (M1, M14 y M18)



Nota. En la figura se observa el marcador de peso molecular (Ladder) con fragmentos de referencia en pares de bases (bp). Las bandas principales en las muestras M1, M14 y M18 se encuentran alrededor de los 700 pb, correspondiente al tamaño esperado del fragmento amplificado. El control negativo (C-) no presenta bandas visibles, lo que indica ausencia de contaminación.

La comparación de las secuencias obtenidas de las muestras M1, M14 y M18 con la base de datos del NCBI mediante el programa BLAST reveló altos porcentajes de identidad con diversas especies del género *Colletotrichum*.

La muestra M1 (Tabla 3.3) presentó la mayor similitud con *Colletotrichum alienum*, con un 98 % de identidad y un Total Score de 854; la muestra M14 (Tabla 3.4) presentó la mayor similitud con *Colletotrichum aeshynomenes*, con un 99 % de identidad y un Total Score de 891; y la muestra M18 (Tabla 3.5) presentó la mayor similitud con *Colletotrichum alienum*, con un 100 % de identidad y un Total Score de 876.

Tabla 3.3

Tabla de alineaciones significantes de la muestra M1

Nombre científico	Total Score	E value	%identidad	Número de accesoión
<i>Colletotrichum alienum</i>	854	0.0	98.35 %	NR_120141.1

Tabla 3.4

Tabla de alineaciones significantes de la muestra M14

Nombre científico	Total Score	E value	%identidad	Número de accesoión
<i>Colletotrichum aeshynomenes</i>	891	0.0	99.39 %	NR_120133.1

Tabla 3.5

Tabla de alineaciones significantes de la muestra M18

Nombre científico	Total Score	E value	%identidad	Número de accesoión
<i>Colletotrichum alienum</i>	876	0.0	100.00 %	NR_120141.1

Diversos estudios han demostrado la utilidad de los iniciadores ITS1 e ITS4 para la identificación molecular de especies de *Colletotrichum*. Villanueva et al. (2008) identificaron *C. gloeosporioides*, *C. orbiculare* y *C. fragariae* con porcentajes de similitud entre 99,8 % y 100 %, mientras que Xavier (2018) confirmó la identificación de *C. gloeosporioides* utilizando los mismos marcadores. De igual forma, Fan et al. (2025) emplearon la región ITS para identificar *C. fruticola*.

Prueba de patogenicidad

Los cuatro grupos de aislamientos de *Colletotrichum* resultaron patogénicos, al reproducir los síntomas característicos de la enfermedad en frutos verdes y maduros cinco días después de la inoculación. En los puntos de infección se observaron lesiones necróticas, acompañadas de micelio blanco y masas conidiales de color salmón y naranja. Mientras que los frutos testigo, tanto verdes como maduros, permanecieron asintomáticos. Se registró una incidencia del 100 %, lo que evidenció la presencia del patógeno en todas las muestras analizadas.

De manera similar, diversos estudios han reportado la aparición de síntomas de antracnosis en frutos de anonáceas pocos días después de la inoculación con especies de *Colletotrichum*. Villanueva et al. (2008) observaron lesiones necróticas hundidas con masas de conidios, mientras que Álvarez y Tenesaca (2022), Fan et al. (2025) y Salinas et al. (2020) reportaron síntomas necróticos similares entre los cinco y siete días posteriores a la inoculación.

Figura 3.62

Presencia de esporulación de color salmón a naranja en los puntos de infección de frutos de anona

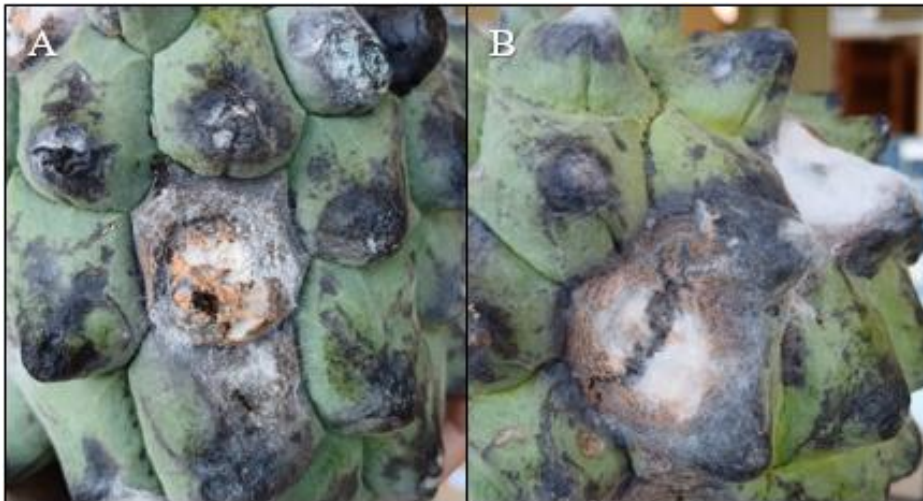


Figura 3.63

Lesiones necróticas circulares en los puntos de infección de frutos verdes de anona



Nota. Lesiones provocadas por los diferentes grupos de aislamientos, 12 días después de la inoculación. A. Grupo I. B. Grupo II. C. Grupo III. D. Grupo IV.

Figura 3.64

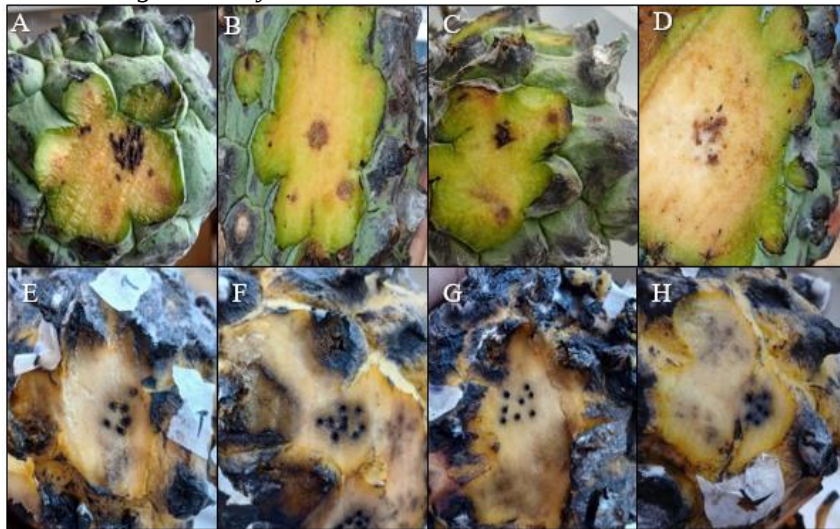
Lesiones necróticas circulares en los puntos de infección de frutos maduros de anona



Nota. Lesiones provocadas por los diferentes grupos de aislamientos, 7 días después de la inoculación. A. Grupo I. B. Grupo II. C. Grupo III. D. Grupo IV.

Figura 3.65

Frutos testigo verdes y maduros asintomáticos



Nota. Frutos verdes testigo asintomáticos: (A) Grupo I, (B) Grupo II, (C) Grupo III, (D) Grupo IV. Frutos maduros testigo asintomáticos: (E) Grupo I, (F) Grupo II, (G) Grupo III, (H) Grupo IV.

Tabla 3.6

Incidencia de antracnosis en frutos verdes y maduros de anóna inoculados con diferentes aislamientos de Colletotrichum

Tipo de fruto	Aislamientos	Frutos inoculados	Puntos de inoculación totales	Puntos con síntomas	Incidencia (%)
Verde	Grupo I	2	10	10	100
Verde	Grupo II	2	10	10	100
Verde	Grupo III	2	10	10	100
Verde	Grupo IV	2	10	10	100
Maduro	Grupo I	2	10	10	100
Maduro	Grupo II	2	10	10	100
Maduro	Grupo III	2	10	10	100
Maduro	Grupo IV	2	10	10	100

CONCLUSIONES

1. Se obtuvieron 25 aislamientos del agente causal de la antracnosis en frutos de anóna (*Rollinia mucosa* (Jacq.) Baill.).
2. Los aislamientos obtenidos presentaron características morfológicas compatibles con el género *Colletotrichum*, identificado en este estudio como el agente causal de la antracnosis en frutos de anóna procedentes del distrito de Kimbiri, Cusco.
3. La identificación molecular, empleando el marcador ITS, permitió confirmar la pertenencia de los aislamientos M1 a *Colletotrichum alienum* (98.35 % de identidad),

- M14 a *Colletotrichum aeshynomenes* (99.39 %) y M18 a *Colletotrichum alienum* (100 %), evidenciando altos niveles de similitud con las secuencias de referencia.
4. Los aislamientos de *Colletotrichum* demostraron ser patogénicos al reproducir los síntomas característicos de antracnosis en frutos verdes y maduros de anona, cinco días después de la inoculación.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Álvarez, E., Gañán, L., Rojas, A., Mejía, F., Llano, A., & González, A. (2014). Diversity and pathogenicity of *Colletotrichum* species isolated from soursop in Colombia. *European Journal of Plant Pathology*, 139(2), 325-338. <https://doi.org/10.1007/s10658-014-0388-7>
- Álvarez, M., & Tenesaca, D. (2022). *Determinación del agente causal de la antracnosis en Annona cherimola (chirimoya) en el cantón Gualaceo provincia del Azuay* [bachelorThesis, Universidad de Cuenca]. <https://dspace.ucuenca.edu.ec/handle/123456789/38954>
- Barquero, M., Peres, N., & Arauz, L. (2013). Presencia de *Colletotrichum acutatum* y *Colletotrichum gloeosporioides* en helecho hoja de cuero, limón criollo, papaya, carambola y mango en Costa rica y Florida (Estados Unidos). *Agronomía Costarricense*, 37(1), 23-38.
- Barnett, H., & Hunter, B. (1998). *Illustrated genera of imperfect fungi*. Fourth Edition. APS Press. Minesota, USA. 197p.
- Dean, R., Van Kan, L., Pretorius, A., Hammond, E., Di Pietro, A., Spanu, D., Rudd, J., Dickman, M., Kahmann, R., Ellis, J., & Foster, G. (2012). The Top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology. *Molecular Plant Pathology*, 13(4), 414-430. <https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2011.00783.x>
- Fan, L., Wang, Y., Jiang, E., Yin, S., Yang, Q., Xu, Y., Lu, C., Tan, J., Wei, R., Fu, C., Jiang, T., & Fan, L. (2025). First Report of Anthracnose on *Annona squamosa* Caused by *Colletotrichum fruticola* in China. *Plant Disease*, 109(4), 935. <https://doi.org/10.1094/PDIS-09-24-1967-PDN>
- Flores, S. (1997). *Cultivo de frutales nativos amazónicos: Manual del extensionista*. Tratado de Cooperación Amazónica, Secretaría Pro Tempore. <https://www.semanticscholar.org/paper/Cultivo-de-frutales-nativos-amaz%C3%B3nicos-%3A-manual-del-Payt%C3%A1n/6e7e63493ec4a5a1270738f33826c84f0d348b2b>
- Gutsche, A., Smith, N., & Wust, W. (2008). *Frutas amazónicas, postres peruanos de vanguardia*. Ministerio de Comercio Exterior y Turismo. <https://repositorio.iiap.gob.pe/handle/20.500.12921/137>
- Granda, J. (2025). *Evaluación de las características fisicoquímicas y organolépticas de un néctar a base de Anona (Rollinia Mucosa) endulzado con stevia*.
- Hernandez, C. (2024). *Identificação de espécies de colletotrichum associadas à antracnose em anonáceas e avaliação de estratégias de manejo*. <http://www.repositorio.ufal.br/jspui/handle/123456789/16949>
- Janick, J., & Paull, R. (2008). *The Encyclopedia of Fruit and Nuts*. CABI.
- Kamei, S., Costa, J., Netto, M., Assunção, I., & Lima, G. (2014). Identificação e caracterização de espécies de *Colletotrichum* associadas à antracnose de

- anonáceas no estado de Alagoas. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 36, 209-216.
<https://doi.org/10.1590/S0100-29452014000500025>
- Love, K., & Paull, R. (2011). *Rollinia*. *Hawaii Tropical Fruit Growers*, CTAHR Department of Tropical Plant and Soil Sciences.
- Pérez, L., José, M., & Beltrán, J. (2003). Caracterización morfológica y patogénica de *Colletotrichum* sp. Como agente causal de la antracnosis en ñame *Dioscorea* sp. *Revista Colombiana de Biotecnología*, V(1), 24-35.
- Rojó, I., Álvarez, B., García, S., León, J., Sañudo, A., & Allende, R. (2017). Situación actual de *Colletotrichums* spp. en México: Taxonomía, caracterización, patogénesis y control. *Revista Mexicana de Fitopatología, Mexican Journal of Phytopathology*, 35(3). <https://doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.1703-9>
- Salinas, A., Vidal, L., Vidal, A., García, F., & Yáñez, M. (2020). First report of anthracnose lesions caused by *Colletotrichum siamense* on *Annona scleroderma* fruits in Mexico. *Journal of Plant Pathology*, 102(1), 261-261.
<https://doi.org/10.1007/s42161-019-00398-0>
- Velázquez, A., García, E., Robles, L., Nava, C., & Nieto, D. (2018). Primer reporte del género *Colletotrichum* spp. En frutos de pimienta gorda (*Pimenta dioica*) en Veracruz, México. *Revista mexicana de fitopatología*, 36(2), 342-355.
- Vásquez, L., & Fetta, K. (2023). *Efecto antibacteriano del gel de extracto de Rollinia mucosa (Jacq.) Baill “anona” frente a cepas de colección americana de cultivos*.
<https://repositorio.uwiener.edu.pe/handle/20.500.13053/10245>
- Villanueva, R., Hernández, M., Yáñez, J., Téliz, D., Mora, A., Cárdenas, E., & Castañeda, Á. (2005). Caracterización e identificación de *Colletotrichum fragariae* en frutos de chirimoya. *Agrociencia*, 39(1), 93-106.
- Villanueva, R., Yáñez, J., & Hernández, M. (2008). Especies de *Colletotrichum* en chirimoya (*Annona cherimola* Mill.). *Agrociencia*, 42(6), 689-701.
- Xavier, C. (2018). *Caracterização de espécies de colletotrichum em vegetação de Mata Atlântica no estado do Rio de Janeiro, Brasil*. (Tesis de maestría, Universidad Federal Rural do Rio de Janeiro)