

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS



CARRERA: INGENIERÍA AGRONÓMICA

EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA *in vitro* DE CINCO
EXTRACTOS VEGETALES (EV) CONTRA *Colletotrichum spp.* AISLADO DE
TOMATE DE ÁRBOL (*Solanum betaceum*).

Documento Final del Proyecto de Investigación como requisito para obtener el grado
de Ingeniero Agrónomo

AUTOR:

GALO EDUARDO CARRANZA ARÉVALO

TUTOR:

Ing. Mg. Luciano Valle

CEVALLOS - ECUADOR

2017

DECLARACIÓN DE ORIGINALIDAD

El suscrito, GALO EDUARDO CARRANZA ARÉVALO, portador de la cédula de identidad número: 1805195672, libre y voluntariamente declaro que el Informe Final del Proyecto de investigación titulado: EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA *in vitro* DE CINCO EXTRACTOS VEGETALES (EV) CONTRA *Colletotrichum spp.* AISLADO DE TOMATE DE ÁRBOL (*Solanum betaceum*)”, es original, autentico y personal.

En tal virtud, declaro que el contenido es de mi sola responsabilidad legal y académica, excepto donde se indican las fuentes de información consultadas.

GALO EDUARDO CARRANZA ARÉVALO

DERECHOS DE AUTOR

Al presentar este Informe Final del Proyecto de Investigación titulado “EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA *in vitro* DE CINCO EXTRACTOS VEGETALES (EV) CONTRA *Colletotrichum spp.* AISLADO DE TOMATE DE ÁRBOL (*Solanum betaceum*)”, como uno de los requisitos previos para la obtención del título de grado de Ingeniero Agrónomo, en la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Técnica de Ambato, autorizo a la Biblioteca de la Facultad, para que este documento esté disponible para su lectura, según las normas de la Universidad.

Estoy de acuerdo en que se realice cualquier copia de este Informe Final, dentro de las regulaciones de la Universidad, siempre y cuando esta reproducción no suponga una ganancia económica potencial.

Sin perjuicio de ejercer mi derecho de autor, autorizo a la Universidad Técnica de Ambato la publicación de este Informe Final, o de parte de él”.

GALO EDUARDO CARRANZA ARÉVALO

“EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA *in vitro* DE CINCO EXTRACTOS VEGETALES (EV) CONTRA *Colletotrichum spp.* AISLADO DE TOMATE DE ÁRBOL (*Solanum betaceum*)”

REVISADO POR:

Ing. Mg. Luciano Valle

TUTOR

Ing. Mg. Marco Pérez

ASESOR DE BIOMETRÍA

APROBADO POR LOS MIEMBROS DE CALIFICACIÓN:

FECHA

Ing. Mg. Hernán Zurita

PRESIDENTE TRIBUNAL

Ing. Mg. Marco Pérez

MIEMBRO DEL TRIBUNAL DE CALIFICACIÓN

Ing. Mg. Marilú González

MIEMBRO DEL TRIBUNAL DE CALIFICACIÓN

AGRADECIMIENTOS

A ti Dios, por bendecirme día a día y permitirme hacer realidad mis sueños.

A los profesores y personal de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Técnica de Ambato, que con sus conocimientos y consejos aportaron a mi formación académica.

Al Ing. Mg. Luciano Valle, quien me brindo todo su apoyo y conocimiento para terminar con éxito la presente investigación.

Al Ing. Mg. Luis Villacís, que con su amistad, confianza y conocimientos apporto fehacientemente durante la etapa final de mi formación personal y en el desarrollo del presente trabajo de investigación, infinitas gracias.

Al Ing. Mg. Marco Pérez y a la Ing. Mg. Verónica Rivera, que con sus consejos y conocimientos aportaron a la culminación del presente proyecto de investigación.

Son muchas las personas que han formado parte de mi vida profesional a las que me encantaría agradecerles su amistad, consejos, apoyo, ánimo y compañía. Algunas están aquí conmigo y otras en mis recuerdos y en mi corazón, sin importar en donde estén quiero darles las gracias por formar parte de mí, por todo lo que me han brindado y por todas sus bendiciones.

GALO EDUARDO CARRANZA ARÉVALO

DEDICATORIA

A Dios, por bendecirme, cuidarme y fortalecerme día a día.

A mis padres, Galo y Myriam, que con su ejemplo de trabajo y lucha constante han sido mi apoyo fundamental para alcanzar mis metas.

A mi hermano, Álvaro, que con su amistad y cariño, ha formado parte imprescindible de mi vida.

“La dicha de la vida consiste en tener siempre algo que hacer, alguien a quien amar y alguna cosa que esperar”.

(Thomas Chalmers)

ÍNDICE DE CONTENIDOS

	Pág.
CAPÍTULO I	1
INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO II.....	4
REVISIÓN DE LITERATURA O MARCO TEÓRICO.....	4
2.1 ANTECEDENTES INVESTIGATIVOS	4
2.2 MARCO CONCEPTUAL O CATEGORÍAS FUNDAMENTALES	9
2.2.1 <i>Solanum betaceum</i>	9
2.2.2 Antracnosis.....	15
2.2.3 <i>C. acutatum</i>	16
2.2.4 Extractos vegetales.....	23
CAPÍTULO III.....	30
HIPÓTESIS Y OBJETIVOS	30
3.1. HIPÓTESIS.....	30
3.2. OBJETIVOS	30
3.2.1. Objetivo General	30
3.2.2. Objetivos Específicos.....	30
CAPÍTULO IV.....	31
MATERIALES Y MÉTODOS	31
4.1. UBICACIÓN DEL EXPERIMENTO	31
4.2. CARACTERIZACIÓN DEL LUGAR	31
4.2.1. Clima.....	31
4.3. EQUIPOS, MATERIALES Y REACTIVOS	31
4.3.1. Equipos.....	31
4.4.2. Materiales.....	32
4.3.3. Reactivos.....	33
4.4. FACTORES EN ESTUDIO.....	33

4.4.1. Especies vegetales.....	33
4.4.2. Métodos de extracción	33
4.5. TRATAMIENTOS	33
4.6. DISEÑO EXPERIMENTAL	35
4.6.1 Tipo de Diseño Experimental.....	35
4.6.2 Número de repeticiones.....	35
4.7. VARIABLES RESPUESTA.....	35
4.7.1. Porcentaje de Inhibición Micelial (% IM).....	35
4.7.2. Velocidad de Crecimiento Radial (VCR).....	35
4.7.3. Número de Conidios (C)	36
4.7.4. Porcentaje de Viabilidad de las Conidias (%VC)	36
4.7.5. Biomasa (B)	36
4. 8. MANEJO DEL ENSAYO	37
4.8.1. Recolección de especies vegetales	37
6.3.2.- Recolección de agente causal.....	37
6.3.3- Aislamiento del agente causal.....	37
6.3.4- Obtención de extractos vegetales.....	37
4.7. PROCESAMIENTO DE LA INFORMACIÓN	41
CAPITULO V	42
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	42
5. 1. RESULTADOS.....	42
5.1.4. Screening fitoquímico de del Extracto de <i>L. officinalis</i>	45
5.2. DISCUSIÓN	46
CAPÍTULO VI.....	48
CONCLUSIONES, BIBLIOGRAFÍA Y ANEXOS	48
6.1. CONCLUSIONES	48
6.2. BIBLIOGRAFÍA	49
6.3. ANEXOS	55

CAPÍTULO VII	62
PROPUESTA.....	62
7.1 TÍTULO	62
7.2 DATOS INFORMATIVOS	62
7.3 ANTECEDENTES DE LA PROPUESTA	62
7.4 JUSTIFICACIÓN E IMPORTANCIA	62
7.5 OBJETIVO	63
7.6 ANÁLISIS DE FACTIBILIDAD	63
7.7 FUNDAMENTACIÓN	63
7.8 METODOLOGÍA, MODELO OPERATIVO	64
7.9 PREVISIÓN DE LA EVALUACIÓN	64

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA DE <i>S. betaceum</i>	10
Tabla 2. VARIEDADES DE <i>S. betaceum</i> CULTIVADO EN ECUADOR	13
Tabla 3. PRINCIPALES PLAGAS Y ENFERMEDADES DE <i>S. betaceum</i>	14
Tabla 4. CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA DE <i>C. acutatum</i>	16
Tabla 5. CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA DE <i>M. recutita</i>	25
Tabla 6. CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA DE <i>D. ferox</i>	26
Tabla 7. CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA DE <i>A. arborenszens</i>	27
Tabla 8. CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA DE <i>L. officinalis</i>	28
Tabla 9. CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA DE <i>U. dioica</i>	29
Tabla 10. TRATAMIENTOS	34
Tabla 11. METODOLOGÍA PARA SCREENING FITOQUÍMICO DE EXTRACTOS VEGETALES	39
Tabla 12. ACTIVIDAD ANTI FÚNGICA DE LOS EXTRACTOS VEGETALES DE <i>M.</i> <i>recutita</i> , <i>D. ferox</i> , <i>A. arborenszens</i> , <i>L.officinalis</i> y <i>U. dioica</i> EN EL CONTROL in vitro DE <i>Colletotrichum</i> sp.....	44
Tabla 13. SCREENING FITOQUÍMICO DEL EXTRACTO DE <i>L. officinalis</i>	45

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 2. Estrategias de infección de <i>Colletotrichum</i> sp.....	20
Figura 3. Infecciones quiescentes	22

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Datos obtenidos en Porcentaje de Inhibición Micelial (% IM) a las 48 horas.....	55
Anexo 2. Datos obtenidos de Velocidad de Crecimiento Radial (VCR) a las 48 horas.	56
Anexo 3. Datos obtenidos en Porcentaje de Inhibición Micelial (% IM) a las 96 horas.....	56
Anexo 4. Datos obtenidos en Velocidad de Crecimiento Radial (VCR) a las 96 horas	57
Anexo 5. Datos obtenidos en Porcentaje de Inhibición Micelial (% IM) a las 144 horas.....	57
Anexo 6. Datos obtenidos en Velocidad de Crecimiento Radial (VCR) a las 144 horas.....	58
Anexo 7. Datos obtenidos de Biomasa (B) a las 144 horas.....	58
Anexo 8. Datos obtenidos en Número de Conidias (C) a las 144 horas.....	59
Anexo 9. Datos obtenidos en Viabilidad de las Conidias (VC) a las 144 horas.....	59
Anexo 10. Equipo de Hidrodestilación Clevenger.....	60
Anexo 11. Frutos de <i>S. betaceum</i> infectados con <i>Colletotricum</i> sp.....	60
Anexo 12. Medio de cultivo APD.....	60
Anexo 13. Dispensación de medio de cultivo APD en cajas Petri.....	61
Anexo 14. Colonias de <i>Colletotrichum</i> sp.	61

RESUMEN EJECUTIVO

El presente trabajo de investigación se realizó con el objetivo de evaluar la actividad antifúngica *in vitro* de Manzanilla (*Matricharia recutita*), chamico (*Datura ferox*), marco (*Ambrosia arborescens* Mill.), lavanda (*lavandula officinalis*) y ortiga (*Urtica dioica*) contra el hongo *Colletotrichum acutatum*. El experimento se realizó en el Laboratorio de Sanidad Vegetal de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Técnica De Ambato.

En el ensayo se utilizó dos métodos de extracción: método por maceración y por arrastre de vapor con equipo Clevenger. El material fúngico fue sembrado en medio de cultivo Agar-Papa-Dextrosa y se incubó a 23 ± 2 °C y 75% de humedad. Se realizó un experimento factorial (A x B + 1) dispuesto en un Diseño Completamente al Azar (DCA) con tres repeticiones, donde se registraron las variables de porcentaje de inhibición micelial, velocidad de crecimiento radial, número de conidias, viabilidad de las conidias y biomasa. Los mejores resultados en los parámetros medidos se obtuvieron con el extracto de *L. officinalis* obtenido por arrastre de vapor; se obtuvo el mejor porcentaje de inhibición micelial (74,98 %), biomasa (1066, 67 µg), velocidad de crecimiento radial (2,0 mm/día), número de conidias ($2,92 \times 10^6$), viabilidad de las conidias (44,17 %), sin embargo es necesario mencionar que todas las especies vegetales utilizadas presentaron actividad antifúngica contra *C. acutatum*. Se determinó que el extracto vegetal de *L. officinalis* contiene aceite esencial, alcaloides, cetonas, fenoles, flavonoides, quinonas, saponinas, taninos y terpenos, metabolitos que son atribuidos a propiedades antibacterianas, antifúngicas e insecticidas.

PALABRAS CLAVE: *Colletotrichum acutatum*, *Solanum betaceum*, *Lavandula officinalis*, extractos vegetales.

SUMMARY

The present research was carried out with the objective of evaluating the antifungal activity of manzanilla (*Matricharia recutita*), chamico (*Datura ferox*), marco (*Ambrosia arborescens* Mill.), lavender (*Lavandula officinalis*) and nettle (*Urtica dioica*) against the fungus *Colletotrichum acutatum*. The experiment was carried out at the Plant Health Laboratory of the Faculty of Agricultural Sciences of the Technical University of Ambato.

Two extraction methods were used in the test: maceration and steam trapping with Clevenger equipment. The fungal material was seeded in Agar-Potato-Dextrose culture medium and incubated at 23 ± 2 ° C and 75% moisture. A factorial experiment (A x B + 1) was performed in a completely randomized design (DCA) with three replicates, where the variables of percentage of mycelial inhibition, radial growth rate, number of conidia, conidia viability and biomass. The best results in the measured parameters were obtained with extract of *L. officinalis* obtained by drag of steam; The best percentage of mycelial inhibition (74,98%), biomass (1066, 67 µg), radial growth rate (2,0 mm / day), conidia number ($2,92 \times 10^6$), viability Conidia (44,17%), however it is necessary to mention that all plant species used had antifungal activity against *C. acutatum*. The extract of *L. officinalis* was found to contain essential oils, alkaloids, ketones, phenols, flavonoids, quinones, saponins, tannins and terpenes, metabolites that are attributed to antibacterial, antifungal and insecticidal properties.

KEYWORDS: *Colletotrichum acutatum*, *Solanum betaceum*, *Lavandula officinalis*, plant extracts.

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

El cultivo de frutales andinos constituye una de las principales fuentes de ingresos económicos para los productores de la Región Sierra de Ecuador, uno de estos frutales es el tomate de árbol (*S. betaceum*), el cual se cultiva principalmente en los valles de la Región Andina. Hasta 2013, se registraron 774 UPA´s, con 785 has plantadas a nivel nacional, de las cuales 741 estuvieron en la Región Sierra. La principal provincia productora de tomate de árbol es Tungurahua, que registró 192 has plantadas, seguida de Imbabura con 106 has, Loja con 63 has, y las provincias de Pichincha, Bolívar, Carchi y Cotopaxi que registran superficies inferiores a las 20 has, cada una (INEC, 2013).

La superficie de cultivo de tomate de árbol (*S. betaceum*) se incrementa continuamente en el país, principalmente en la provincia de Tungurahua, la cual, según la Encuesta de Superficie y Producción Agropecuaria Continua (ESPAC) del año 2015, la producción anual de tomate de árbol en esta provincia representa el 59,02 % respecto a la producción nacional de este cultivo y se encuentran 1493 has plantadas y 1005 has en producción, de las cuales se registró una producción anual de 9546 Tm (INEC, 2016).

La antracnosis del fruto, también llamada “ojo de pollo”, ocasionada por el hongo filamentoso fitopatógeno *Colletotrichum acutatum*, es la enfermedad más importante del cultivo de tomate de árbol (*S. betaceum*), por su amplia distribución y por las pérdidas económicas que ocasiona. Esta enfermedad es la mayor limitante que se presenta en los cultivos comerciales y en las pequeñas explotaciones domésticas de la fruta. La incidencia de la enfermedad ha llevado a que se utilicen cada vez mayores cantidades de pesticidas (Martínez, 2009).

El uso de productos químicos sintéticos destinados al control de esta enfermedad tiene un papel muy marcado en la producción de tomate de árbol, sin embargo el uso indiscriminado e inadecuado de éstos ha generado diversos inconvenientes, tales como

elevados costos de producción y por ende reducción en la rentabilidad del cultivo, el desarrollo de resistencia del patógeno, elevados niveles de residuos de pesticidas en la fruta, y por consecuencia el riesgo que éstos representan para la salud de productores y consumidores, además del daño al medio ambiente.

Por estos motivos, desde las últimas décadas del siglo XX se ha incrementado el interés en la búsqueda de alternativas más seguras que permitan mitigar el impacto negativo de este tipo de productos. Una estrategia que ha resultado satisfactoria para reducir la utilización de agroquímicos costosos y potencialmente peligrosos, ha sido el manejo integrado de plagas y dentro de esta opción, el uso de sustancias de origen natural, consideradas seguras para la salud humana, el medio ambiente, y aceptadas por los consumidores (Tripathi y Dubey, 2004).

El empleo de extractos vegetales para el control de plagas y enfermedades en el marco de una agricultura sostenible constituye una alternativa promisoriosa, debido a su elevada efectividad, bajo costo y no ser contaminantes del ambiente. Estos bioproductos se caracterizan por la presencia de determinados compuestos como los flavonoides, fenoles, terpenos, aceites esenciales, alcaloides, lectinas y polipéptidos. Sus mecanismos de acción son variables; la toxicidad de los fenoles en microorganismos se atribuye a inhibición enzimática por oxidación de compuestos. El modo de acción de los terpenos y aceites esenciales no ha sido dilucidado por completo, pero se postula que pueden causar rompimiento de la membrana a través de los compuestos lipofílicos. De los alcaloides se ha postulado que se intercalan con el ADN, y de las lectinas y polipéptidos se conoce que pueden formar canales iónicos en la membrana microbiana o causar la inhibición competitiva por adhesión de proteínas microbianas a los polisacáridos receptores del hospedero (Cowan, 1999) (Velázquez del Valle *et al.*, 2007).

Dichos compuestos le proporcionan importantes características a los extractos, como son anti apetitivos, antivirales, antimicrobianos o repelentes, que permiten su utilización para proteger los cultivos e incrementar la calidad y su producción alimentaria, ya que tienen la propiedad de ser menos tóxicos y más fácilmente degradables en relación a los agroquímicos (Villalobos, 1996) (Rodríguez *et al.*, 2000).

Debido a la actividad biocida que poseen la manzanilla (*Matricharia recutita*), chamico (*Datura ferox*), marco (*Ambrosia arborescens Mill.*), lavanda (*Lavandula officinalis*) y ortiga (*Urtica dioica*) se evaluó su actividad antifúngica *in vitro* contra el hongo *Colletotrichum spp.*, cultivado en Agar-Papa-Dextrosa, realizando mediciones del porcentaje de inhibición micelial, velocidad de crecimiento radial, numero de conidias, viabilidad de las conidias y biomasa.

CAPÍTULO II

REVISIÓN DE LITERATURA O MARCO TEÓRICO

2.1 ANTECEDENTES INVESTIGATIVOS

Celis *et al.*, 2008 realizaron una recopilación de casos comprobados de la actividad biocida de extractos y sustancias de origen vegetal para el control de arvenses, plagas y enfermedades en el sector agrícola. En su investigación citan a Stauffer *et al.*, 2000, quienes evaluaron los extractos de 98 especies vegetales pertenecientes a 46 familias botánicas; 7 monocotiledóneas; 46 dicotiledóneas; 1 conífera y 2 pteridofitas para determinar su posible efecto fungicida o bactericida, con la factibilidad de ser utilizados en el control de enfermedades en plantas. Nueve de los extractos evaluados: ajo, cebolla, quebracho colorado, agrial, palo santo, chirca, guayaba, eucalipto y pino demostraron inhibición de crecimiento de la bacteria *Xanthomonas campestris*. La inhibición del crecimiento fungoso solo se obtuvo con extractos de ajo y cebolla, así como con el extracto de mamón contra *Colletotrichum sp.* El extracto de ajo tuvo efecto inhibitorio sobre siete especies de hongos; *Penicillium italicum*, *Aspergillus flavus*, *Fusarium sp.*, *Rhizoctonia solani*, *Alternaria sp.*, *Colletotrichum sp.* y *Pythium sp.* El efecto de la cebolla fue de menor intensidad y afectó solo a *Fusarium sp.*, *Alternaria sp.*, *Colletotrichum sp.* y *Pythium sp.*

En el año 2012, Tayupanta, en su trabajo de investigación “Control *in vitro* de Botrytis (*Botrytis cinerea*), Mildiu (*Bremia lactucae*) y Esclerotinia (*Sclerotinia sclerotiorum*) en lechuga (*Lactuca sativa*), usando extractos de cola de caballo (*Equisetum arvense*), ortiga (*Urtica dioica*), ruda (*Ruta graveolens*) y tomillo (*Thymus vulgaris*)” determinó que el extracto de cola de caballo, presentó la mayor acción fungicida tanto para el hongo *B. cinérea* como para el hongo *B. lactucae*, ya que presentó el mayor halo de inhibición con promedios de 44 mm y 46,5 mm respectivamente y la menor cantidad de unidades formadoras de colonias; $2,9 * 10^5$ y $3,2 * 10^5$ respectivamente. El extracto de ruda, tuvo mayor acción fungicida sobre el hongo *S. sclerotiorum*, ya que presentó el mayor halo de inhibición con un promedio de 40,75 mm y el menor número de unidades formadoras de colonias con un promedio

de $3,3 \cdot 10^5$ ufc. Además, el extracto de ortiga, tuvo poco efecto sobre el control de los hongos *B. cinérea*, *B. lactucae* y *S. sclerotiorum*, mientras que el extracto de tomillo, no presentó acción fungicida para ninguno de los hongos.

Vanegas *et al.*, 2007 determinaron que los monoterpenos, entre ellos el isoespintanol presenta actividad anti fúngica contra el hongo *C. acutatum*, mostrando una inhibición micelial del 44,6% a la concentración de 100 mg/l y 48.9 % a 250 y 500 mg/l. Contra *C. gloeosporioides* se observaron valores de inhibición micelial de 30,9% a la concentración de 100 mg/l, 47,8% a 250 mg/l y 33.6 a 500 mg/l.

Davicino *et al.*, 2007, estudiaron la actividad anti fúngica de diferentes plantas argentinas contra *Candida albicans*, *Saccharomyces cereviceae*, *Aspergillus niger* y *Penicillium notatum*. En su investigación determinaron que el extracto etanólico de *L. divaricata* mostró efecto inhibitorio sobre el crecimiento de *S. cereviceae*, *C. albicans* y *A. niger* con valores de concentración inhibitoria mínima de 2,5; 20 y 120 mg/ml respectivamente y no inhibió el crecimiento de *P. notatum*. Los extractos etanólicos de *G. gaudichaudianum* y *B. trimera* inhibieron solamente el crecimiento de *S. cereviceae*, con una concentración inhibitoria mínima de 5 y 40 mg/ml, respectivamente. Las decocciones de *G. gaudichaudianum*, *B. trimera* y *S. terebenthifolius* inhibieron el crecimiento de *C. albicans* con un valor de concentración inhibitoria mínima de 250 mg/ml. Ninguna de las decocciones inhibió el crecimiento de *A. níger* y *P. notatum*, a las concentraciones ensayadas. Las decocciones de *S. areira* L., *X. spinosum* L., *L. turbinata* Griseb, *C. bonariensis* L., *T. megapotamicum* Spreng y *J. rhombifolia* no presentaron actividad anti fúngica contra los hongos ensayados en las concentraciones probadas.

Carvajal *et al.*, 2000, sostienen que para el tratamiento de semillas, los mejores productos han sido los aceites esenciales que pueden tener acción inclusive sobre la parte interna de las semillas. Contra *Aspergillus flavus* en maíz, se han conseguido excelentes resultados con los aceites esenciales de canela, clavo, orégano, epazote, albahaca, tomillo y yerbabuena a su máxima concentración; sólo el ajo, la pimienta negra y la cebolla no tuvieron efecto eficiente.

Alzate *et al.*, 2009, mencionan que la antracnosis del tomate de árbol, ocasionada por el hongo *C. acutatum*, es la enfermedad más importante de este cultivo en Colombia, por su amplia distribución y las pérdidas que ocasiona. En su investigación evaluaron la actividad antifúngica contra la especie *C. acutatum* de los aceites esenciales de tomillo (*Thymus vulgaris*), limoncillo (*Cymbopogon citratus*), y sus componentes mayoritarios, timol y citral. Los resultados demuestran que el timol a 125 mg/l y el citral a 300 mg/l inhiben el crecimiento micelial completamente durante 11 días de incubación. La germinación de las esporas se evita en un 100% con el aceite esencial de limoncillo a 350 y 400 mg/l, timol a 100 y 125 mg/l, y citral a 250 y 300 mg/l, después de un período de doce horas. Adicionalmente, el timol a 125 mg/l y el citral a 300 mg/l inhiben completamente la esporulación. Las evaluaciones de fitotoxicidad revelan que la aplicación de gotas localizadas sobre la superficie foliar de *S. betaceum*, a concentraciones entre 150 y 5000 mg/l, no ocasionan ningún daño. Así mismo, la aspersión foliar completa y sistemática cada 2 días, durante 2 meses continuos con concentraciones de 1500 mg/l, no produce ningún síntoma de marchitamiento, deterioro del crecimiento o alteración del desarrollo general de las plantas.

Pérez *et al.*, 2011 evaluaron la actividad inhibitoria *in vitro* de extractos de hojas de *Melissa officinalis*, *Origanum vulgare*, *Jatropha gossypilia*, *Eucalyptus sp.*, *Melia azederach* y *Mascagnia concinna* sobre aislados de hongo del genero *Colletotrichum*, causante de la enfermedad antracnosis del cultivo de ñame (*Dioscorea alata*, *D. rotundata*) en el Departamento de Sucre, Colombia. Para la obtención de extractos etanólicos de hojas de *M. officinalis* y *O. vulgare*, se utilizó el método de percolación y para las otras especies vegetales, el método de Soxhlet. Una vez preparados los extractos de hojas, se evaluó su actividad inhibitoria sobre seis aislados de hongo del genero *Colletotrichum*. Para la prueba inhibitoria utilizaron el método de siembra directa sobre la superficie del medio agar-papa-dextrosa. Sobre las diferentes cepas se adicionaron 250 µl de cada extracto por separado. Se utilizó un control positivo con nistatina (4 mg/ml) y un testigo absoluto sin ningún tipo de tratamiento. La prueba se evaluó midiendo el crecimiento radial de cada cepa con los diferentes tratamientos a 96 y 168 horas. Los resultados expresados en porcentaje de inhibición, mostraron alta actividad inhibitoria de los extractos obtenidos de las hojas de las plantas de *M.*

azederach y *M. concinna*, sobre los hongos evaluados y su acción fue similar al control positivo.

Rodríguez *et al.*, 2000, en su investigación “Efecto de extractos vegetales sobre el crecimiento *in vitro* de hongos fitopatógenos” mencionan que muchas especies botánicas muestran una acción reguladora sobre un gran número de plagas y enfermedades. Este efecto se ha atribuido a la presencia de un grupo de metabolitos secundarios en diferentes partes de las plantas que les confieren una protección natural; por ello se estudiaron la posibilidad que sean utilizados en el manejo integrado de plagas y enfermedades. En su trabajo se obtuvieron extractos hidro-alcohólicos de las especies vegetales: aroma amarilla (*Acacia farnesiana*), escoba amarga (*Parthenium hysterophorus*) y salvia cimarrona (*Pluchea carlinensis*). En la investigación determinaron que los tres extractos tienen elevada actividad anti fúngica sobre el hongo *Pyricularia grisea* y *Phytophthora parasitica* var. *Nicotianae* y la actividad para el resto de los hongos depende del tipo de extracto y el tiempo de evaluación. Adicionalmente, se comprobaron que todos los extractos tenían en su composición química metabolitos de reconocida actividad antimicrobiana. Determinaron que los tres extractos vegetales contienen: flavonoides, fenoles, taninos, aminoácidos y saponinas; excepto el proveniente de la escoba amarga, en los demás también se detectaron quinonas y alcaloides. La inhibición del crecimiento micelial exhibida por los extractos se debe a la presencia de algunos de estos metabolitos, como los flavonoides, que son un grupo de compuestos de amplio rango de actividad biológica, que incluye la actividad antimicrobiana, antiviral, atrayente de polinizadores, protectora de las plantas contra la luz ultravioleta y antioxidantes, entre otras. También los fenoles y taninos son compuestos de reconocida actividad antimicrobiana, antiviral, repelentes de insectos.

Pérez *et al.*, 2000, publicaron su investigación denominada “Estudio preliminar de dos extractos vegetales para el control *in vitro* del hongo *Corynespora cassiicola*” en la cual sostienen que a nivel mundial los plaguicidas de origen natural constituyen un importante medio para el control de las plagas en los diversos cultivos, como una alternativa para disminuir el consumo de productos químicos, pues estos, además de tener un elevado costo, provocan resistencia por su uso continuo y contaminan el

medio ambiente. Razón por la cual su estudio estuvo dirigido a la determinación de la actividad inhibitoria de dos extractos vegetales a partir de las plantas filigrana o verbena morada (*Lantana cámara L.*) y piñón amoroso (*Gliricidia sepium*) sobre el crecimiento micelial del hongo fitopatógeno *C. cassicola*, realizaron pruebas *in vitro* con medio de cultivo agar-papa-dextrosa, evaluándose el crecimiento radial de las colonias durante siete días a una temperatura de incubación de 27 °C. En la investigación se determinó que las dos sustancias vegetales mostraron actividad inhibitoria frente a *C. cassicola*, sin embargo el mejor control se obtuvo al emplear el extracto de piñón amoroso, ya que no se observó crecimiento micelial hasta el quinto día, mientras que con el extracto de verbena morada se inició a partir de las 72 horas.

Olivares *et al.*, 2013, sostienen que el manejo de las enfermedades bacterianas en plantas se ha hecho mundialmente difícil debido a la resistencia a los productos químicos que durante muchos años han sido empleados en la agricultura. El uso de extractos acuosos vegetales como bactericidas naturales para el control de las bacterias fitopatógenas, representa una nueva alternativa agroecológica para los agricultores. Por lo cual, realizaron su investigación con el objetivo de evaluar el efecto bactericida de 16 extractos de plantas en el control de las bacterias fitopatógenas del género *Xanthomonas*. Para la obtención de los extractos se utilizaron 200 g de hojas de cada especie evaluada la cual se licuó con 1000 ml de agua destilada. Las evaluaciones fueron realizadas a partir de las 48 horas, realizando conteo de las colonias de *Xanthomonas axonaphodi* y *Xanthomona sp* observadas en el medio con el extracto. Los resultados mostraron que de todos los extractos vegetales probados, solo cuatro de ellos demostraron inhibición significativa del crecimiento de bacteria *X. axonaphodi*, estos son: *Syzygium cumini*, *Mespilus germánica*, *Pinus pinea* y *Cassia javanica*. Para *Xanthomona sp*. los extractos que lograron controlarla fueron *Salix babilónica*, *Syzygium cumini*, *Mespilus germanica*, *Tamarindus indica*, *Solanum nigrum*, *Passiflora edulis*, y *Anacardium occidentale*. Los extractos de *Mespilus germanica* y *Syzygium cumini* poseen un gran potencial para el control de bacterias del género *Xantomonas*. Lo que sugiere que estos pueden ser una alternativa para el manejo integrado de las enfermedades en los cultivos de la zona agrícola.

2.2 MARCO CONCEPTUAL O CATEGORÍAS FUNDAMENTALES

2.2.1 *Solanum betaceum*

A continuación se detalla la revisión bibliográfica del tomate de árbol, describiendo su origen, taxonomía y los aspectos agronómicos de importancia para el desarrollo de este cultivo.

2.2.1.1 Origen y Generalidades

Según CORPOICA (2003), citado por Maita en el 2011, su probable centro de origen se localiza áreas boscosas del sur de Bolivia y norte de Argentina, encontrándose además individuos silvestres de esta especie en Perú, Chile, Ecuador y Colombia. Esta fruta se ha establecido en los Andes Suramericanos en lugares ubicados desde los 1800 hasta los 3000 m.s.n.m. y hoy en día su cultivo se encuentra disperso por diferentes partes del mundo.

2.2.1.2 Taxonomía

El tomate de árbol, como lo nombró originalmente Cavanilles en 1799, fue transferido por Sendtner en 1845 al género *Cyphomandra* donde perteneció hasta 1995, cuando Bohs lo regresó al género *Solanum* (Atkinson, 1990) (Borrero, 2007).

En la actualidad, se trata a *Cyphomandra* como un clado dentro del género *Solanum* y no como un género separado y se utiliza la denominación *Solanum betacea* Cav. y *Cyphomandra betacea* Cav. como sinónimos.

Tabla 1. CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA DE *S. betaceum*

TAXÓN	NOMBRE
Reino	Plantae
División	Fanerógamas
Subdivisión	Angiospermas
Clase	Dicotiledóneas
Subclase	Simpétalas
Orden	Tubiflorae
Familia	Solanaceae
Género	<i>Solanum</i>
Especie	<i>S. betaceum Cav.</i>
Nombre común	Tomate de árbol

Elaborado por: Carranza, 2017.

Fuente: Revelo *et al.*, 2004.

2.2.1.3 Descripción Botánica

Según CORPOICA (2003), citado por Maita en el 2011, el tomate de árbol en forma natural es un arbusto cuyo tamaño varia de dos a seis metros de altura, con un tallo semileñoso que se ramifica a diferentes alturas y presenta una copa que se desarrolla en diversas formas, dependiendo de la ramificación del tallo y del método de propagación utilizado, sea éste sexual o asexual.

Maita (2011) sostiene que en el Ecuador, en huertos experimentales se han determinado alturas de 2,35 m en el cantón Guachapala y 3,08 m en el cantón el Pan, provincia de Azuay. Éste arbusto presenta la siguiente descripción botánica:

- Raíz: es pivotante y presenta diferentes longitudes de acuerdo a la textura y estructura del suelo, así, en suelos arenosos se ha encontrado que la mayor cantidad de raíces de absorción se encuentran entre los 0,4 y 0,6 m del tallo y a una profundidad entre 0 y 0,2 m. Alcanzan un radio de 1 metro a partir del tallo y una

profundidad máxima de 1,85 m, esto en plantas provenientes de semillas (Maita, 2011).

- Tallo: es recto, cilíndrico, presenta una coloración verde-oscuro o verde-pálido en el estado juvenil y se torna verde grisáceo en el estado adulto. Puede alcanzar alturas entre 2,5 a 3,0 m y se ramifica en tres ramas a un rango de altura entre 1,0 – 1,5 m, de acuerdo al genotipo cultivado, la nutrición y el ambiente donde se desarrolla. Cuando las plantas de tomate de árbol son injertadas, se obtienen plantas más bajas que alcanzan a los 2,0 m (Barriga, 2012).
- Hojas: son simples, grandes, de 0,3 – 0,4 m de ancho en plantas jóvenes, y 0,2 – 0,25 m de largo y 0,1 – 0,15 m de ancho en plantas en producción. Tienen disposición alterna, espiral, forma acorazonada y borde entero. Las hojas jóvenes son de color morado oscuro o verde intenso, según la variedad del cultivar; las mismas que al madurar presentan el haz de coloración verde intenso y el envés verde pálido (Maita, 2011).
- Inflorescencia: produce inflorescencias en forma de cimas escorpoideas, es decir que el eje principal de la inflorescencia no crece indefinidamente sino que muere o termina en una flor (Maita, 2011).
- Flores: son pequeñas, aproximadamente 1 cm de diámetro, de color rosado, agrupadas en racimos supra axiales. La flor es pentámera y con 5 estambres de anteras biloculares de color amarillo. Por encima del cono sobresale el pistilo. La corola presenta 5 pétalos largos de color rosado. En cada racimo se presentan hasta 40 flores, de las cuáles de tres a seis logran cuajar formando los frutos y llegan a la madurez fisiológica. La polinización es autógama, en mayor parte y también alógama por medio de las abejas (Revelo *et al.*, 2004).
- Frutos: es una baya ovalada, bilocular, carnosa, puntiaguda o redonda en el extremo. El color del fruto depende de la variedad: amarillo, anaranjado, rojo amarillento o rojo opaco. La pulpa es jugosa, agrídulce y de color anaranjado claro (Revelo *et al.*, 2004).

- Semillas: son dicotiledóneas, semiplanas, redondas, de 2,0 a 4,0 mm de diámetro y de color blanco amarillento. Se encuentran en el interior del fruto rodeado por la pulpa. El número de semillas por fruto difiere entre variedades en un rango de 186 a 343 semillas (Revelo *et al.*, 2004).

2.2.1.3 Variedades

Según Revelo *et al.*, 2004, en Ecuador no existe una clasificación clara de los genotipos de tomate de árbol cultivados, lo que ha dado lugar a confusiones en su denominación. También se puede señalar que no existen variedades propiamente dichas, con excepción del híbrido “Mora” introducido desde Nueva Zelanda, obtenido del cruzamiento entre los tomates “Rojo Puntón” y el “Negro Silvestre Lojano”, nativos de Ecuador. Este híbrido no produce semilla viable y solamente se propaga por estaca, es decir, vegetativamente. Con el propósito de tener una definición comercial, se puede decir que existen variedades de pulpa amarilla y variedades de pulpa morada o púrpura.

Tabla 2. VARIEDADES DE *S. betaceum* CULTIVADOS EN ECUADOR

NOMBRE	FORMA	COLOR		NO. FRUTOS /INFLORESCENCIA
		CÁSCARA	COLOR PULPA	
Amarillo	Ovoide	Amarillo	Anaranjado claro	2,2
Negro	Ovoide	Púrpura	Anaranjado – púrpura	2,2
Redondo	Elíptico	Anaranjado claro	Anaranjado claro	3
Puntón (común)	Ovoide	Anaranjado oscuro	Anaranjado claro	2,4
Rojo	Ovoide	Rojo oscuro	Anaranjado medio	3,4
Amarillo Gigante	Ovoide	Anaranjado claro	Anaranjado claro	4
Mora (Neozelandés)	Ovoide	Morado	Anaranjado – púrpura	4
Mora Ecuatoriano	Ovoide	Morado	Anaranjado - púrpura	4

Elaborado por: Carranza, 2017

Fuente: Revelo *et al.*, 2004.

2.2.1.4 Características sanitarias del cultivo de tomate de árbol

Revelo, *et al.*, 2004 sostienen que el tomate de árbol es uno de los cultivos que presenta mayor sensibilidad a la presencia de enfermedades y plagas. El conocimiento que se tiene sobre la situación fitosanitaria del tomate de árbol en el Ecuador es parcial. Es necesario realizar estudios para disponer de un entendimiento epidemiológico de las enfermedades e insectos plaga para desarrollar estrategias de manejo integrado.

Maita, (2011) menciona que en Ecuador, las enfermedades más frecuentes en orden de prioridad están la antracnosis conocida como “ojo de pollo” (*Colletotrichum acutatum*), lancha (*Phytophthora infestans*), mancha negra conocida como “pata de puerco” (*Fusarium solani*) y oídio (*Oidium sp.*) como las más importantes. En lo relativo a plagas, entre las limitantes del cultivo del tomate de árbol en la zona tenemos el chinchorro, denominado también chinche foliado o patón (*Leptoglossus zonatus*), los ácaros (*Tetranychus sp.*), los nematodos (*Meloidogyne incognita*) y los pulgones o áfidos (*Aphis sp.* y *Myzus sp.*).

2.2.1.5 Plagas y Enfermedades

Estas ocasionan grandes pérdidas económicas en los cultivos y a continuación se detallan los problemas más frecuentes del cultivo de acuerdo a Revelo *et al.*, 2008:

Tabla 3. PRINCIPALES PLAGAS Y ENFERMEDADES DE *S. betaceum*

NOMBRE COMÚN	AGENTE CAUSAL
Antracnosis	<i>Colletotrichum acutatum</i>
Lancha	<i>Phytophthora infestans</i>
Mancha negra del tronco	<i>Fusarium solani</i>
Cenicilla	<i>Oidium sp.</i>
Alternariosis	<i>Alternaria sp.</i>
Virosis	<i>Virus del amarillamiento (TaMV)</i>
Nematodos	<i>Meloidogyne incognita</i>
Pulgones	<i>Aphis sp.</i>
Chinche foliado	<i>Leptoglossus zonatus</i>
Gusanos trozadores	<i>Agrotis sp.</i>

Elaborado por: Carranza, 2017.

Para la diseminación de la antracnosis es necesario la presencia del chinche foliado, el cual perfora la corteza del fruto, acción por la cual el ingreso de *C. acutatum* es más sencillo. El chinche foliado o patón (*Leptoglossus zonatus*) Se presenta en zonas bajas y secas. Ocasiona daño a los frutos en diferentes estados de desarrollo, mediante la perforación que realiza con el estilete. Tal parece que la saliva del insecto contiene alguna toxina que ocasiona una reacción fisiológica de la planta, dando origen a una zona endurecida. En la corteza del fruto se presentan puntos oscuros ligeramente hundidos que cambian de color rojo a morado dependiendo de la madurez del fruto y la variedad. Si el ataque es a flores y a frutos tiernos o inmaduros, se produce la caída de los mismos.

2.2.2 Antracnosis

Agrios (2008) señala que las antracnosis son enfermedades del follaje, tallos o frutos que típicamente aparecen como manchas grandes o pequeñas de colores oscuros, o lesiones ligeramente sumidas que posee un contorno ligeramente levantado. Además de las manchas foliares, las antracnosis con frecuencia tienen una etapa inicial prolongada en la infección de los frutos y pueden producir la muerte descendente de las ramitas o ramas de las plantas. En algunas de ellas, en particular las que muestran una gran severidad sobre los árboles frutales, los síntomas aparecen como pequeñas manchas que poseen superficies corchosas salientes. Las antracnosis de los frutos con frecuencia producen la caída y pudrición de estos.

En el tomate de árbol, los síntomas de antracnosis causadas por *C. acutatum* se presentan mayoritariamente en los frutos, los cuales luego de ser infectados presentan manchas negruzcas de forma convexa, las cuáles crecen de acuerdo al avance de la infección y generalmente presentan bordes regulares. Luego de la infección, existe podredumbre de los frutos y éstos caen, ocasionalmente también éstos sufren momificación y permanecen en la planta. El micelio del hongo se desarrolla en la zona de infección, presenta coloración blanquecina, la cual se va tornando rosácea con el transcurrir del tiempo.

2.2.3 *Colletotrichum acutatum*

Wharton y Diéguez (2004) mencionan que es uno de los principales hongos patógenos en agricultura y responsable de importantes pérdidas económicas en frutales en áreas tanto de climas templados como subtropicales y tropicales. Korsten (2009) citado por Maita en el 2011 sostienen que los climas cálidos y húmedos favorecen el desarrollo, reproducción y diseminación de *C. acutatum*.

Este hongo fitopatógeno puede afectar a la mayor parte de la planta, desde la raíz hasta las hojas, flores, ramas, y fruta, causando enfermedades como la pudrición de la raíz, defoliación, muerte de las flores, y la pudrición de la fruta. Sin embargo, la mayoría de las pérdidas significativas debido a la infección por *C. acutatum* se incurre cuando el patógeno ataca a la fruta (Prusky, 1992) (Wharton *et al.*, 2004).

2.2.3.1. Taxonomía

Tabla 4. CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA DE *C. acutatum*

TAXÓN	NOMBRE
Reino:	Mycetae
División:	Eumycota
Clase:	Coelomycetes
Género:	Colletotrichum
Especie:	acutatum
Nombre científico:	<i>C. acutatum</i>

Elaborado por: Carranza, 2017.

Fuente: Rivera, 2007.

2.2.3.2. Morfología

Según Wharton *et al.*, 2004, las características morfológicas son utilizadas para definir la especie de *Colletotrichum* aunque la dependencia excesiva de este último llevó una proliferación de nombres innecesarios.

2.2.3.3. Morfología de la colonia

Falconi *et al.*, 2013 sostiene que todos los aislamientos presentan pigmentación blanco grisáceo. El crecimiento de los aislamientos es regular y progresivo en el PDA y, después de 10 días a 17 ± 2 ° C a la luz del día, la superficie del plato Petri es cubierta. Además los aislados de tomate de árbol forman micelio aéreo blanco ligeramente pálido, algodonoso y a menudo denso cerca del centro. En general, el color de la colonia de los aislamientos de tamarillo cambia en el tiempo de blanco a oscuro, y los conidios de color salmón rosado. La tasa de crecimiento es más homogénea entre aislamientos a 25 ° C, a 30 ° C la tasa de crecimiento de los hongos se reduce.

2.2.3.4. Morfología

Este hongo presenta un micelio septado de coloración hialina o castaña clara, los acérvulos separados tienen forma de disco o cojín, de textura cerosa y pueden ubicarse en forma subepidermial, epidermial o subcuticular. Los conidióforos son simples, elongados, filiformes y cortos, dispuestos en palizada con numerosas conidias. Las conidias son hialinas, curvadas y fusiformes (Barnett, 1998 y Holliday, 1995) (Parra, 2008).

En todos los hospedantes el hongo se reproduce profusamente y forma masas rosadas de conidios sobre los acérvulos. Los acérvulos constan de un estroma micelial en forma de cojín de pocas a muchas células de espesor y se forma inmediatamente por debajo de la cutícula de la planta, a la cual rompe al ejercer una cierta presión hacia la parte superior de la masa de conidióforos y conidios en proceso de desarrollo. Los conidios se mantienen unidos en una masa viscosa que es firme y dura cuando el clima es seco, pero en climas cálidos húmedos los conidios son liberados en una masa rosácea y

pueden ser arrastrados o salpicados por las gotas de lluvia o ser transportados por el viento y por los insectos. Por lo general, el hongo requiere de altas temperaturas y humedad para tener una mejor actividad (Agrios, 2008).

2.2.3.5. Genética

Según Wheeler (1988); citado por Wharton y Diéguez (2004), el ciclo de vida de las especies de *Colletotrichum* comprende una etapa sexual y una asexual. En términos generales, la fase sexual permite la variabilidad genética y la etapa asexual es responsable de la dispersión del hongo. La recombinación sexual en la mayoría de especies de *Colletotrichum* es rara en la naturaleza, sólo 11 de las cerca 20 especies de *Colletotrichum* tienen teleomorfos. La fase sexual de *C. acutatum* nunca se ha encontrado en la naturaleza. Sin embargo, los estudios han mostrado que existe una amplia diversidad genética y heterogeneidad dentro de esta especie. Una hipótesis para esta diversidad es la aparición de recombinación sexual entre cepas del hongo. Se encontró que *C. acutatum* aislados del mismo huésped eran, en general autoestériles pero que el cruce entre *C. acutatum* aislamientos desde diferentes huéspedes produce fácilmente la teleomorfía.

Katan (2000) citado por Wharton y Diéguez (2004) menciona que otro mecanismo por el que la diversidad genética pueda generarse en poblaciones de *C. acutatum* es a través de la compatibilidad vegetativa. El término compatibilidad vegetativa se refiere a la capacidad de las cepas de hongos a tener anastomosis y formar un complejo hifal mutuo, lo que resulta en células fusionadas viables que contienen núcleos de ambas cepas parentales en un citoplasma común.

2.2.3.6. Epidemiología

Darvas y Kotze (1987), mencionan que la mayoría de las enfermedades causadas por *Colletotrichum* son transmitidas por conidios que son llevados por el agua, y causan infecciones quiescentes en los periodos de altas precipitaciones y de temprano crecimiento de la fruta. En el campo, la esporulación de hongos en tejidos infectados sucede durante los períodos de humedad prolongada, y los conidios son dispersados

por las salpicaduras de lluvia. Posteriormente a la contaminación, el hongo inicia infecciones quiescentes y síntomas de la enfermedad no se observan hasta que la fruta comienza a podrirse.

En estudios realizados por Rondón, (1998), determinaron que las hojas, pedúnculos, ramas jóvenes, racimos, botones florales, sépalos de la flor y los frutos en cualquier estado, son tejidos potencialmente susceptibles al hongo, además, existe una correlación importante entre la precipitación en todo el año y el desarrollo de la enfermedad, el hongo es dependiente de la precipitación y la humedad relativa para su germinación, desarrollo y dispersión. Para el desarrollo de la enfermedad se requiere altos niveles de humedad relativa; 90 – 95 % y temperaturas entre 20-25 °C (Álvarez, 1996) (Parra, 2008).

2.2.3.7. Desarrollo de la enfermedad

Prusky *et al.*, 1992, sostienen que las primeras etapas del desarrollo de hongos durante el proceso de infección son esencialmente el mismo para todas las especies de *Colletotrichum*, por ello las separó en fases, incluyendo:

- 1) Deposición de conidios en superficie de las plantas.
- 2) Fijación de conidios de aquellas superficies.
- 3) Germinación de los conidios.
- 4) Producción de apresorios.
- 5) Penetración a la epidermis de la planta.
- 6) Crecimiento y colonización en los tejidos vegetales.
- 7) Producción de acérvulos y la esporulación.

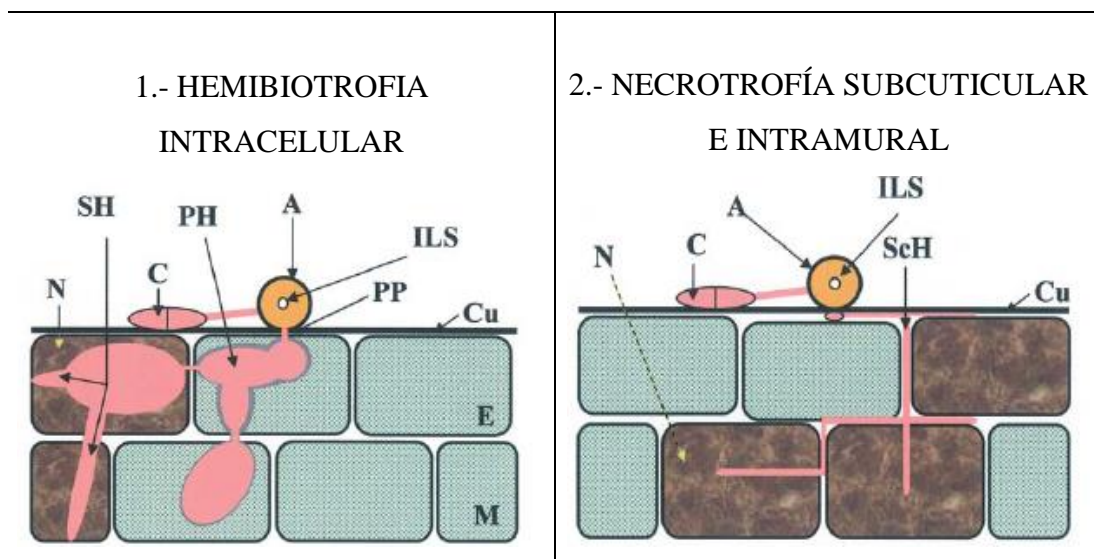


Figura 1. Estrategias de infección de *Colletotrichum* sp.

Las estrategias de infección adoptadas por las especies de *Colletotrichum*. Las etapas iniciales de diferenciación temprana son las mismas para ambas estrategias. Un conidio (C) germina y forma el apresorio (A). El apresorio produce un poro de penetración (PP) que penetra la cutícula (Cu) del huésped y como resultado se puede ver un punto de luz interno (ILS) en el apresorio. **1. Hemibiotrofia intracelular**, el punto de penetración ingresa en la célula epidérmica y se hincha para producir una vesícula de infección e hifas amplias, denominadas hifas primarias (PH), que pueden colonizar las células epidérmicas (E) y del mesófilo (M) adyacentes. Durante las primeras etapas de este tipo de colonización, la interacción entre el huésped y el patógeno es biotrófica (célula viva representada en verde). La posterior interacción necrotrófica (N) (representada en marrón) se caracteriza por la formación de hifas secundarias delgadas (SH). Estas hifas secundarias crecen intracelular e intercelularmente mientras que secretan las enzimas de degradación de la pared celular y matan las células huésped. **2. Necrotrofia subcuticular e intramural**, la colonización del hospedador es inicialmente por hifas subcuticulares (SCH) e intramurales, la fase biotrófica es muy corta o no ocurre. El hongo se propaga rápidamente a través del tejido y crece tanto inter como intracelularmente. (Bailey *et al.*, 1992) (Wharton y Diéguez, 2004).

2.2.3.8. Infecciones quiescentes

Una relación parasítica latente o quiescente, se define como una condición en la cual el patógeno reduce su actividad metabólica, deteniendo el proceso de infección por un periodo considerable durante la vida del hospedero, que se reactiva cuando las circunstancias fisiológicas o ambientales lo permitan (Yerhoeff, 1974) (Parra, 2008).

El término infección quiescente describe una "relación parasitaria inactiva o latente, que después de un tiempo cambia a una relación parasitaria activa", un organismo se puede tornar quiescente en cualquiera de las siguientes etapas de su vida: en germinación, elongación del tubo germinativo, formación del apresorio y penetración. (Verhoeff, 1974; Swinburne, 1983) (Wharton y Diéguez, 2004).

Según Prusky *et al.*, 1992, en la mayoría de las especies de *Colletotrichum* la quiescencia se produce después de la formación del apresorio y/o la penetración inicial de la cutícula del huésped.

El etileno participa directamente en la terminación de la quiescencia, *Colletotrichum* tiene la habilidad para desarrollar un mecanismo donde usa la hormona de la maduración del hospedero como señal para reactivar el proceso de infección. Este mecanismo evita el contacto del patógeno con tejidos del hospedero que tienen altos niveles de compuestos anti fúngicos (Flaishman y Kolattukudy, 1994) (Parra, 2008).

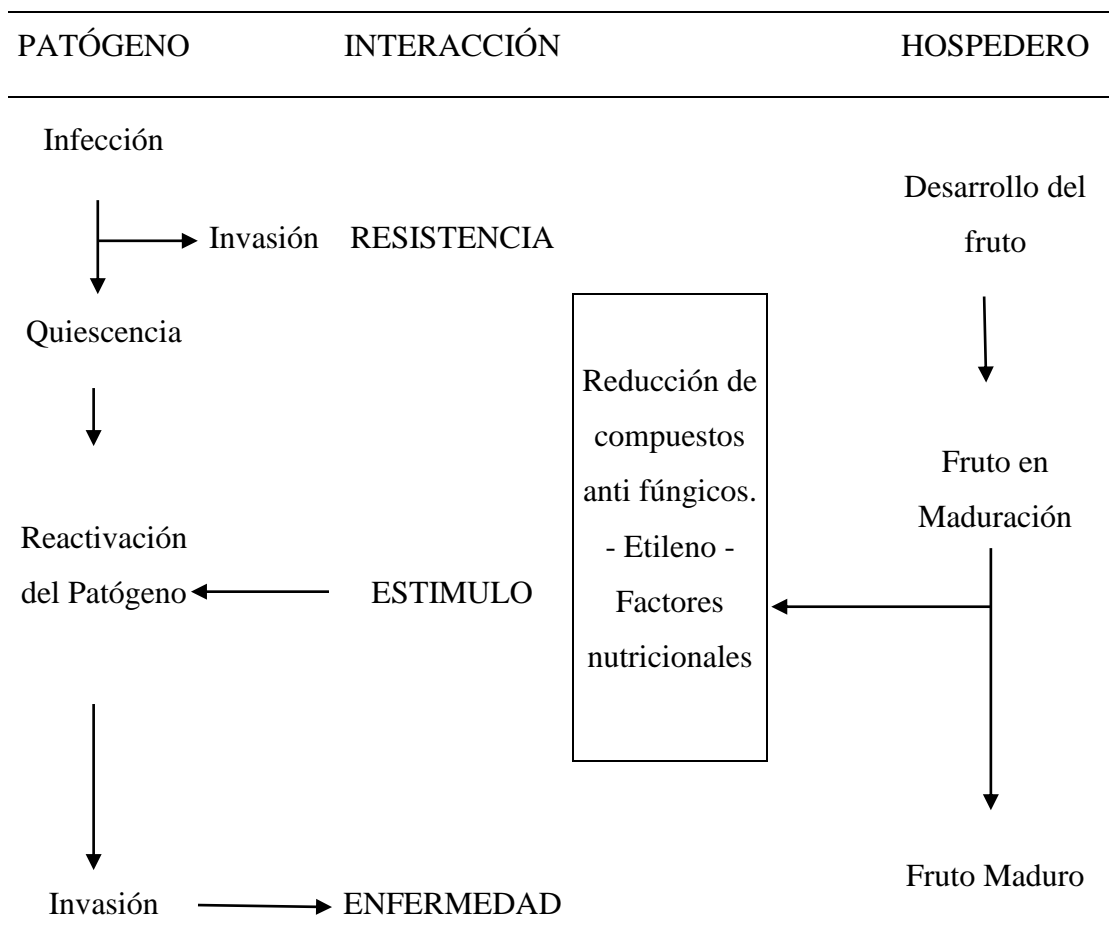


Figura 2. Infecciones quiescentes

Elaborado por: Carranza, 2017.

Fuente: Arauz, 2000.

2.2.3.9. Sintomatología

En las primeras etapas de infección de los fruto, los síntomas aparecen como pequeñas manchas húmedas, hundidas y de forma circular que se asemejan a las depresiones ocasionadas por objetos redondos. Conforme se ablandan los frutos, las manchas se extienden hasta alcanzar un diámetro de 2 o 3 cm, y su parte central se ennegrece y endurece ligeramente debido a los acérvulos negros que se desarrollan inmediatamente por debajo de la epidermis del fruto. Las manchas producen primero el ablandamiento aguanoso del fruto y por último su pudrición, que en ocasiones es acelerada por otros microorganismos invasores. Enormes cantidades de conidios se forman en los acérvulos que se encuentran por debajo de la epidermis del fruto incluso en las manchas más pequeñas, aunque bajo ciertas condiciones aparecen también masas de

esporas de color salmón o rosa sobre la superficie de las manchas. El hongo inverna en los restos de plantas infectadas, así como en las semillas. El hongo produce infecciones leves del follaje y tallos jóvenes que pueden pasar inadvertidas, pero que permiten al hongo sobrevivir y reproducirse hasta que el fruto empieza a madurar y se hace susceptible a la infección. Las altas temperaturas y alta humedad relativa o el tiempo húmedo al momento de la maduración de los frutos, favorecen la infección y propagación del hongo, y con ello el desarrollo a epifitias destructivas (Agrios, 2008).

2.2.3.10. Control

Wharton y Diéguez (2004) mencionan que el control efectivo de las enfermedades causadas por *Colletotrichum* implica el uso de uno o una combinación de los siguientes métodos:

- 1) Cultivares resistentes.
- 2) Control cultural.
- 3) Control químico.
- 4) Control biológico utilizando organismos antagónicos.
- 5) Control botánico (Extractos y Aceites vegetales).

2.2.4 Extractos vegetales

Un extracto vegetal es una mezcla compleja, con multitud de compuestos químicos, obtenible por procesos físicos, químicos y/o microbiológicos a partir de una fuente natural y utilizable en cualquier campo de la tecnología, también puede definirse como una mezcla compleja de compuestos con actividad farmacológica, compuesta por un principio activo dentro de una matriz, en principio, sin actividad terapéutica. (Pardo, 2002).

Según Piñeros (1992), los extractos vegetales son productos obtenidos por el tratamiento de materiales vegetales con solventes apropiados como agua, alcohol o éter. Ellos actúan de dos formas como reforzantes o nutrientes que fortifican y estimulan su crecimiento, y a la vez repelen, atraen, inhiben o estimulan a insectos y

patógenos. Con la aplicación de estos extractos se disminuye la proliferación de organismos para los cultivos. Estos productos actúan en estos organismos por contacto, ingestión, repelencia, disuasión, anti alimentarias o alteración del comportamiento. En las plantas existen compuestos que pueden ser extraídos sin alterar su composición. Los metabolitos primarios se originan mediante el proceso fotosintético. Mediante procesos bioquímicos o biosintéticos se obtienen las unidades de azúcares (pentosas, hexosas, etc.) aumentando de este modo la cadena carbonada (carbohidratos, polisacáridos, etc.), y también se logran los aminoácidos necesarios para la formación de péptidos y proteínas. Los metabolitos secundarios son los componentes finales del metabolismo de las plantas, formados a partir de los metabolitos primarios por procesos biosintéticos, por acción enzimática y bioquímica. Estos metabolitos secundarios (alcaloides, esteroides, flavonoides, terpenoides, quinonas, etc.) para insumos biológicos deben ser obtenidos como se encuentran en las plantas, recurriendo a procedimientos que no alteren sus propiedades biológicas (CORPOICA, 2002)

2.2.4.2. Acción de los extractos vegetales de uso agrícola

Diversos productos derivados de las plantas han mostrado un efecto antimicrobiano. Entre estos compuestos destacan los flavonoides, fenoles, terpenos, aceites esenciales, alcaloides, lectinas y polipéptidos. Sus mecanismos de acción son variables; por ejemplo, la toxicidad de los fenoles en microorganismos se atribuye a inhibición enzimática por oxidación de compuestos. El modo de acción de los terpenos y aceites esenciales no ha sido dilucidado por completo, pero se postula que pueden causar rompimiento de la membrana a través de los compuestos lipofílicos. De los alcaloides se ha postulado que se intercalan con el DNA, y de las lectinas y polipéptidos se conoce que pueden formar canales iónicos en la membrana microbiana o causar la inhibición competitiva por adhesión de proteínas microbianas a los polisacáridos receptores del hospedero (Cowan, 1999) (Velázquez del Valle *et al.*, 2007).

2.2.4.3. Descripción de especies seleccionadas para la obtención de extractos vegetales.

MANZANILLA (*Matricaria recutita*)

Taxonomía

Tabla 5. CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA DE *M. recutita*

TAXÓN	NOMBRE
Reino:	Plantae
División:	Magnoliophyta
Clase:	Dicotiledóneas
Subclase:	Asteridae
Orden:	Asterales
Familia:	Asteraceae
Género:	Matricaria
Especie:	<i>M. recutita</i>
Nombre común:	Manzanilla

Elaborado por: Carranza, 2017.

Fuente: (www.ecured.cu/Manzanilla).

Principios activos

Posee aceite esencial, flavonoides, mucílagos urónicos, lactonas y sales minerales (Ecovisiones, 2017).

CHAMICO (*Datura ferox*)

Taxonomía

Tabla 6. CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA DE *D. ferox*

TAXÓN	NOMBRE
Reino:	Plantae
División:	Magnoliophyta
Clase:	Dicotiledóneas
Orden:	Solanales
Familia:	Solanaceae
Género:	Datura
Especie:	Datura metel
Nombre común:	Chamico

Elaborado por: Carranza, 2017.

Fuente: (www.ecured.cu/Chamico).

Principios activos

Contiene saponinas, alcaloides, peroxidasa, escopolamina e hioscina en las flores, atropina y hemoaglutinina (Bibdigital, 2017).

MARCO (*Ambrosia arborescens*)

Taxonomía

Tabla 7. CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA DE *A. arborescens*

TAXÓN	NOMBRE
Reino:	Plantae
División:	Spermatophyta
Clase:	Magnoliopsida
Orden:	Asterales
Familia:	Asteraceae
Género:	Ambrosia
Especie:	Ambrosia arborescens Mill.
Nombre común:	Marco

Elaborado por: Carranza, 2017.

Fuente: Ibarra y Paredes, 2013.

Principios activos

Contiene pseudogunianolido: peruvina, Psilostachyina (Permatree, 2017). Es muy usada para tratar varios tipos de dolencias y molestias como dolor de cabeza, migrañas, reumatismo, fiebre, diabetes, cólicos, dolores de parto, y en casos de fracturas y lesiones. También se la usa para repeler pulgas, garrapatas y curar la sarna. En sistemas agroforestales sirve para controlar plagas que dañan los cultivos y también como cerca viva (Fundación Botánica de los Andes, 2016).

LAVANDA (*Lavandula officinalis*)

Taxonomía

Tabla 8. CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA DE *L. officinalis*

TAXÓN	NOMBRE
Reino:	Plantae
División:	Magnoliophyta
Clase:	Dicotiledóneas
Orden:	Lamiales
Familia:	Lamiaceae
Género:	Lavandula
Especie:	Lavandula officinalis
Nombre común:	Lavanda

Elaborado por: Carranza, 2017.

Fuente: www.ecured.cu/Lavanda.

Principios activos

Contiene aceite esencial, monoterpenos, sesquiterpenos, alcoholes no terpénicos y monoterpénicos regulares e irregulares. Esteres no terpénicos y terpénicos, cetonas no terpénicas y terpénicas, alcanfor, sesquiterpenonas mono y bisaturadas y mono y bicíclicas. Aldehidos no terpénicos y terpénicos, lactosas, cumarinas. Flavonoides: luteolol. Triterpenos: ácido ursólico. Taninos y Fitosteroles (Hierbitas, 2017).

ORTIGA (*Urtica dioica*)

Taxonomía

Tabla 9. CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA DE *U. dioica*

TAXÓN	NOMBRE
Reino:	Plantae
División:	Magnoliophyta
Clase:	Dicotiledóneas
Orden:	Rosales
Familia:	Urticaceae
Género:	Urtica
Especie:	Urtica dioica
Nombre común:	Ortiga

Elaborado por: Carranza, 2017.

Fuente: www.ecured.cu/Ortiga.

Principios activos

Contiene taninos, fitosteroles, polifenoles, monoterpenos y aceite esencial (Hierbitas, 2017).

CAPÍTULO III

HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

3.1. HIPÓTESIS

La aplicación de extractos vegetales permiten reducir/inhibir el crecimiento micelial de *Colletotrichum sp.* aislado de tomate de árbol (*Solanum betacea*).

3.2. OBJETIVOS

3.2.1. Objetivo General

Evaluar la actividad anti fúngica de los extractos vegetales de manzanilla (*Matricharia recutita*), chamico (*Datura ferox*), marco (*Ambrosia arborescens Mill.*), lavanda (*lavandula officinalis*) y ortiga (*Urtica dioica*) en el control *in vitro* de *Colletotrichum sp.* aislado de *S. betaceum*.

3.2.2. Objetivos Específicos

- Determinar el extracto vegetal (EV) que brinde mayor control *in vitro* de *Colletotrichum sp.*
- Identificar los metabolitos secundarios presentes en el extracto vegetal (EV) que permita el control *in vitro* de *C. acutatum*.

CAPÍTULO IV

MATERIALES Y MÉTODOS

4.1. UBICACIÓN DEL EXPERIMENTO

La investigación se llevó a cabo en la Granja Experimental Docente "Querochaca" propiedad de la Universidad Técnica de Ambato, Facultad de Ciencias Agropecuarias, ubicada en el cantón Cevallos, provincia de Tungurahua. Debido a la tipología de la investigación se utilizó en el Laboratorio de Sanidad Vegetal y el Laboratorio de Botánica.

4.2. CARACTERIZACIÓN DEL LUGAR

4.2.1. Clima

Debido a que la investigación fue *in vitro*, se colocó las cajas Petri con material fúngico a 23 ± 2 °C y 75 % de humedad.

4.3. EQUIPOS, MATERIALES Y REACTIVOS

4.3.1. Equipos

- Autoclave
- Balanza de precisión
- Baño maría
- Cámara de aislamiento con luz UV
- Cámara de Neubauer
- Estereoscopio
- Estufa
- Incubadora
- Microscopio
- Refrigeradora

4.4.2. Materiales

- Algodón
- Asas
- Atomizador
- Cajas Petri
- Cámara húmeda
- Cápsulas de porcelana
- Destilados Clevenger
- Detergente
- Embudos de percolación
- Embudos de vidrio vástago largo
- Frasco de vidrio ámbar con tapa rosca ancha de 250 ml
- Fundas de papel
- Fundas plásticas
- Guantes quirúrgicos
- Marcadores de punta fina indelebles
- Mascarillas
- Material vegetal:
 - Manzanilla (*Matricharia recutita*)
 - Chamico (*Datura ferox*)
 - Marco (*Ambrosia arborescens* Mill.)
 - Lavanda (*lavandula officinalis*)
 - Ortiga (*Urtica dioica*)
 - Frutos de tomate de árbol infectados con antracnosis
- Molino
- Papel aluminio
- Papel filtro
- Papel parafilm
- Papel toalla
- Pissetas
- Porta y cubre objetos

- Sacabocado
- Tijera de podar
- Tubos de ensayo
- Vasos de precipitación de 250 ml

4.3.3. Reactivos

- Agar-papa-destroza (APD)
- Agua destilada
- Alcohol Etílico
- Azul de lactofenol

4.4. FACTORES EN ESTUDIO

En el presente trabajo de investigación los factores de estudio fueron:

4.4.1. Especies vegetales

- Manzanilla (*Matricharia recutita*)
- Chamico (*Datura ferox*)
- Marco (*Ambrosia arborescens Mill.*)
- Lavanda (*Lavandula officinalis*)
- Ortiga (*Urtica dioica*)

-

4.4.2. Métodos de extracción

- Extracción por hidrodestilación Clevenger
- Extracción por maceración

4.5. TRATAMIENTOS

Los tratamientos aplicados y que resultan de la combinación de los factores en estudio se presentan en la Tabla 10:

Tabla 10. TRATAMIENTOS

No.	TRATAMIENTOS	DESCRIPCIÓN
1	E1M1	Extracto vegetal de manzanilla (<i>Matricaria recutita</i>) por hidrodestilación
2	E1M2	Extracto vegetal de manzanilla (<i>Matricaria recutita</i>) por maceración
3	E2M1	Extracto vegetal de chamico (<i>Datura ferox</i>) por hidrodestilación
4	E2M2	Extracto vegetal de chamico (<i>Datura ferox</i>) por maceración
5	E3M1	Extracto vegetal de marco (<i>Ambrosia arborescens mill.</i>) por hidrodestilación
6	E3M2	Extracto vegetal de marco (<i>Ambrosia arborescens mill.</i>) por maceración
7	E4M1	Extracto vegetal de lavanda (<i>Lavandula officinalis</i>) por hidrodestilación
8	E4M2	Extracto vegetal de lavanda (<i>Lavandula officinalis</i>) por maceración
9	E5M1	Extracto vegetal de ortiga (<i>Urtica dioica</i>) por hidrodestilación
10	E5M2	Extracto vegetal de ortiga (<i>Urtica dioica</i>) por maceración
11	TESTIGO	Sin aplicación de extracto vegetal

Elaborado por: Carranza, 2017.

4.6. DISEÑO EXPERIMENTAL

4.6.1 Tipo de Diseño Experimental

Se usó un experimento factorial (A x B + 1) dispuesto en un Diseño Completamente al Azar (DCA).

4.6.2 Número de repeticiones

Se realizó tres repeticiones.

4.7. VARIABLES RESPUESTA

4.7.1. Porcentaje de Inhibición Micelial (% IM)

Se registró el diámetro de crecimiento micelial usando una regla milimetrada, a intervalos de 48 - 96 - 144 horas y se aplicó la fórmula propuesta por Sztejnberg *et al.*, 1987:

$$\% \text{ Inhibición} = \left(1 - \frac{\text{Crecimiento en el tratamiento (mm)}}{\text{Crecimiento en el testigo de referencia (mm)}} \right) * 100$$

4.7.2. Velocidad de Crecimiento Radial (VCR)

Se incubó el cultivo a condiciones controladas; 23±2 °C y 75 % de humedad. Se determinó el crecimiento radial a intervalos de 48 - 96 - 144 horas y se aplicó la fórmula propuesta por Bedoya *et al.*, 2014:

$$VCR \text{ (mm/d)} = \frac{\text{Crecimiento Radial (mm)}}{\text{Número de Días}}$$

4.7.3. Número de Conidios (C)

Se registró el número de conidios a las 144 horas, utilizando Cámara de Neubauer y aplicando la fórmula propuesta por Ruiz *et al.*, 1995:

$$C/ml = \frac{\text{Número de conidias} * 10000}{\text{Número de cuadros contabilizados} * \text{Factor de dilución}}$$

$$NC \text{ Total} = \frac{NC}{ml} * \text{Volúmede suspensión}$$

4.7.4. Porcentaje de Viabilidad de las Conidias (%VC)

Se registró la viabilidad de las conidias partiendo de la siembra de un ml con una concentración conocida de conidias. Se incubo durante 24 horas y se observó con tinción de azul de lactofenol. Se determinó el número de conidias germinadas: aquellas cuyo tubo germinativo sea dos veces mayor al diámetro de la conidias y aplicamos la siguiente formula, propuesta por Cañedo *et al.*, 2004:

$$\%VC = \frac{\text{Número de conidias germinadas}}{\text{Número total de conidias}} \times 100$$

4.7.5. Biomasa (B)

Se determinó la biomasa por el método del peso seco, a las 144 horas, usando la fórmula propuesta por Stainer *et al.*, 1992:

$$B = \text{Peso final} - (\text{Peso de cápsula de porcelana} + \text{peso medio de cultivo})$$

4. 8. MANEJO DEL ENSAYO

4.8.1. Recolección de especies vegetales

Se recolectaron 5 kg de las plantas en estudio, cuando éstas se encontraron en etapa de floración. En este estadio se tiene la máxima expresión de metabolitos secundarios de las plantas (Voigt, 1982).

6.3.2.- Recolección de agente causal

Se realizó la recolección de las muestras del agente causal de antracnosis muestreando frutos que presentaron la enfermedad. Se recolectó aproximadamente 500 g de frutos enfermos en fundas plásticas estériles e identificamos el agente causal de la enfermedad, para verificación de los mismos. Se incubó el hongo causante de la enfermedad en una cámara húmeda, la misma que previamente se esterilizó y humedeció con agua destilada.

6.3.3- Aislamiento del agente causal

Se colocaron las muestras con el agente causal en la cámara húmeda a temperatura ambiente, luego de este tiempo sembramos el micelio en cajas Petri con APD. Se incubó el cultivo a condiciones controladas; 23 ± 2 °C y 75 % de humedad, ya que según Falconi *et al.*, 2013, son las mejores condiciones para el desarrollo del hongo.

6.3.4- Obtención de extractos vegetales

Obtención por maceración

Se utilizó la metodología propuesta por Voigt, (1982), la cual se describe a continuación:

1. Pesamos 500 g de material vegetal.
2. Lavamos las hojas con agua destilada.

3. Secamos las hojas a Temperatura de 30-35 °C durante 7 días.
4. Trituramos y tamizamos las hojas secas.
5. Mezclamos 50 g de material vegetal con 30 ml de alcohol etílico y 70 ml de agua destilada.
6. Maceramos por 8 días en frascos ámbar de tapa esmerilada.
7. Filtramos.
8. Concentración a Baño maría, 70% del volumen inicial.
9. Almacenamos en frasco ámbar de tapa esmerilada.

Obtención por arrastre de vapor

Se obtuvo según la metodología propuesta por Domínguez, (1992). Usando el equipo de Extracción por Arrastre de vapor del Laboratorio de Botánica de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Técnica de Ambato.

Aplicación del extracto vegetal

Se utilizó el método de agar envenenado, propuesto por Méndez, (2015).

6.3.5- Screening fitoquímico

A continuación se describe la metodología propuesta por Sherapin, (2000) para el tamizaje fitoquímico de extractos vegetales (Tabla 11).

Tabla 11. METODOLOGÍA PARA SCREENING FITOQUÍMICO DE EXTRACTOS VEGETALES

ENSAYO	METABOLITO	PROCEDIMIENTO	RESULTADO
Dragendorff	Alcaloides	Si la alícuota del extracto está disuelta en un solvente orgánico, éste debe evaporarse, en un baño de agua y el residuo redisolverse en 1 ml de ácido clorhídrico al 1 % en agua. Si el extracto es acuoso, a la alícuota se le añade 1 gota de ácido clorhídrico concentrado. Con la solución acuosa ácida se realiza el ensayo, añadiendo 3 gotas del reactivo.	(+) Opalescencia (++) Turbidez (+++) Precipitado
Bortrager	Quinonas	Si la alícuota del extracto no se encuentra en cloroformo, debe evaporarse el solvente en baño de agua y el residuo redisolverse en 1ml de cloroformo. Se adiciona 1ml hidróxido de sodio, hidróxido de potasio o amonio al 5% en agua. Se agita mezclando las fases y se deja en reposo hasta su separación.	(+) Coloración rosada leve (++) Coloración rosada intensa (+++) Coloración roja.
Liebermann Buchar	Terpenos	Se adiciona 1 ml de anhídrido acético y se	(+) Rosado

		mezcla bien. Por la pared del tubo de ensayo se dejan resbalar 2-3 gotas de ácido sulfúrico concentrado sin agitar.	(++) Verde intenso – visible (+++) Verde oscuro-negro
Espuma	Saponinas	Si la alícuota se encuentra en alcohol, se diluye con 5 veces su volumen en agua y se agita la mezcla fuertemente durante 5–10 min.	(+) si aparece espuma (++) media espuma (+++) alta cantidad de espuma
Cloruro Férrico (FeCl ₃)	Compuestos fenólicos y taninos	Si el extracto es acuoso se añade acetato de sodio para neutralizar y tres gotas de una solución de tricloruro férrico al 5% en solución salina fisiológica. A una alícuota del extracto alcohólico se adiciona el reactivo.	(+) Coloración rojo – vino (++) verde intensa (+++) azul
Shinoda	Flavonoides	Si la alícuota del extracto se encuentra en alcohol, se diluye con 1 ml de ácido clorhídrico concentrado y un pedacito de cinta de magnesio metálico, se espera 5 minutos, se añade 1 ml de alcohol amílico, se mezclan las fases y se deja reposar hasta que se separen.	Cuando el alcohol amílico se colorea de amarillo, naranja, carmelita o rojo; intenso en todos los casos. (+) Coloración leve (++) Coloración media (+++) Coloración intensa

Sudan	Aceite esencial	Se le añade 1 ml de una solución diluida en agua del colorante Sudan III o Sudan IV. Se calienta en baño de agua hasta evaporación del solvente.	+ Presencia de gotas o una película coloreada de rojo. (+) Coloración leve (++) Coloración media (+++) Coloración intensa
Fehling	Cetonas	Si la alícuota del extracto no se encuentra en agua, debe evaporarse el solvente en baño María y el residuo redisolverse en 1–2 ml de agua. Se adicionan 2 ml del reactivo y se calienta en baño María 5–10 min la mezcla.	(+) Coloración roja leve (++) Coloración roja media (+++) Precipitado rojo

Elaborado por: Carranza, 2017.

4.7. PROCESAMIENTO DE LA INFORMACIÓN

Para la interpretación de los resultados obtenidos en el presente trabajo de investigación se utilizó el ANÁLISIS DE VARIANZA (ADEVA) y la prueba de comparación de medias de Tukey al 5%, aplicando el Software Estadístico INFOSTAT.

CAPITULO V

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5. 1. RESULTADOS

5.1.1. Porcentaje de Inhibición Micelial (% IM)

El porcentaje de inhibición micelial se lo midió en tres periodos; a las 48, 96 y 144 horas. A las 48 horas se presentaron cuatro rangos de significación, ocupando el primer lugar el tratamiento E4M1 con una media de 73,33 %, seguido del tratamiento E1M2 con una media de 58,03%, mientras que los tratamientos E3M2 y el Testigo, con medias de 15,02% y 0%, respectivamente, presentaron el menor porcentaje de inhibición micelial.

A las 96 horas, E4M1 presenta el mejor porcentaje de inhibición, con una media de 74,98%, mientras que E5M2 y el Testigo, presentaron menor %IM, con medias de 14,23% y 0%, respectivamente.

En la medición realizada a las 96 horas, E4M1 presento una media de 63,27%, mientras que E5M2 y el Testigo presentaron los menores porcentajes de inhibición, con medias de 11,87% y 0%, respectivamente.

5.1.2. Velocidad de Crecimiento Radial (VCR)

La variable velocidad de crecimiento radial, se registró en tres intervalos de tiempo; a las 48, 96 y 144 horas. A las 48 horas se registraron cuatro rangos de significación, ocupando el primer lugar, con la menor VCR, el tratamiento E4M1 con una media de 2,25 mm/día, mientras que los tratamientos E3M2 y el Testigo, con medias de 7,17 mm/día y 8,42 mm/día, respectivamente, presentan la mayor VCR.

A las 96 horas los tratamientos E4M1, E1M2, E1M1 y E4M2 presentaron la menor VCR, con medias de 2,00 mm/día, 2,42 mm/día, 2,47 mm/día y 2,75 mm/día, respectivamente, mientras que el tratamiento E5M1 y el Testigo presentaron la mayor VCR, con medias de 7,67 mm/día y 8,58 mm/día.

En la medición realizada a las 144 horas, E4M1 registro la menor VCR, con una media de 4,5 mm/día, mientras que E5M1 y el Testigo, registraron la mayor VCR, con medias de 6,25 mm/día y 7,08 mm/día.

5.1.3. Biomasa (B)

La variable biomasa se determinó a las 144 horas y se registraron cinco rangos de significación, los tratamientos E4M1 y E1M2 registraron la menor cantidad de biomasa, con medias de 1066,67 μg y 1133,33 μg , respectivamente. El tratamiento E5M2 y el Testigo, registraron la mayor cantidad de biomasa, con 2200 μg y 2366,67 μg , respectivamente.

5.1.4. Número de Conidias (C)

Para la variable número de conidias, se registraron cinco rangos de significancia. El tratamiento E4B1 registro el menor número de conidias, con una media de $2,92 \times 10^6$, mientras que los tratamientos E5M2 y el Testigo registraron el mayor número de conidias, con medias de $7,78 \times 10^6$ y $8,45 \times 10^6$.

5.1.5. Porcentaje de Viabilidad de las Conidias (%VC)

Para el Porcentaje de Viabilidad de las conidias se registró seis rangos de significancia. Los tratamientos E4M1 y E2M1 se encuentran en el mismo rango de significancia brindando el menor %VC, pero presentan diferencias matemáticas, es así que E4M1 presento una media de 44,17% y E2M1 registró una media de 47,5%.

Tabla 12. ACTIVIDAD ANTI FÚNGICA DE LOS EXTRACTOS VEGETALES DE *M. recutita*, *D. ferox*, *A. arborescens*, *L. officinalis* y *U. dioica* EN EL CONTROL *in vitro* DE *Colletotrichum* sp.

TRATAMIENTOS	VARIABLES								
	%IM (48H)	VCR (48H)	%IM (96H)	VCR (96H)	%IM (144H)	VCR (144H)	B (144H)	NC (144H)	%VC (144H)
E1M1	56,5 b	3,67 ab	62,76 b	2,67 a	49,97 b	5,58 abc	1300,0 ab	3,33 ab	53,33 abc
E1M2	58,03 b	3,5 ab	65,28 ab	2,42 a	52,78 b	5,33 ab	1133,33 a	4,33 ab	64,17 bcd
E2M1	19,66 c	6,75 c	25,54 c	5,92 b	24,14 c	5,42 abc	1666,67 bcd	5,18 bc	47,5 a
E2M2	16,68 c	7,0 cd	21,6 c	6,33 bc	21,31 cde	5,42 abc	2033,33 cde	5,35 bcd	68,33 de
E3M1	17,96 c	6,92 cd	21,01 c	6,5 bc	21,63 cd	5,25 ab	1866,67 cde	7,52 de	65,83 cde
E3M2	15,02 c	7,17 cd	18,11 c	6,75 bc	18,97 cde	5,08 ab	2100,0 de	7,45 de	75,0 def
E4M1	73,3 a	2,25 a	74,98 a	2,0 a	63,27 a	4,5 a	1066,67 a	2,92 a	44,17 a
E4M2	52,2 b	4,0 b	60,3 b	2,75 a	46,83 b	5,92 abc	1533,33 abc	3,62 ab	50,0 ab
E5M1	18,83 c	6,83 c	15,04 c	7,67 bc	12,94 de	6,25 bc	2166,67 de	7,05 cde	79,17 efg
E5M2	16,96 c	7,0 cd	14,23 c	7,58 bc	11,87 e	6,08 abc	2200,0 e	7,78 e	86,75 fg
T	0,0 d	8,42 d	0,0 d	8,58 c	0 f	7,08 c	2366,67 e	8,45 e	91,67 g
CV	14,63	8,92	11,32	16,89	11,10	10,43	9,75	13,13	7,47
EE	2,65	0,30	2,25	0,52	1,89	0,34	99,49	0,43	2,85
P valor	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,0029	<0,0001	<0,0001	<0,0001

*Valores con la misma letra en la misma columna son estadísticamente iguales (Tukey, $P < 0,05$). CV: Coeficiente de Variación. EE: Error Estándar. P valor: Probabilidad. % IM: Porcentaje de Inhibición Micelial. VCR: Velocidad de Crecimiento Radial. B: Biomasa. No. C: Número de conidias $n \times 10^6$. %VC: Porcentaje de Viabilidad de las Conidias.

5.1.6. Screening fitoquímico del Extracto de *L. officinalis*

Tabla 13. SCREENING FITOQUÍMICO DEL EXTRACTO DE *L. officinalis*

COMPUESTO	RESULTADO
Aceite esencial	+++
Alcaloides	++
Cetonas	+
Fenoles	++
Flavonoides	++
Quinonas	+
Saponinas	++
Taninos	+
Terpenos	++

Elaborado por: Carranza, 2017.

Se puede observar en la Tabla 13 que *L. officinalis* presenta un alto contenido de aceite esencial, contenido moderado de alcaloides, fenoles, flavonoides, terpenos y saponinas. Además de un bajo contenido de cetonas, quinonas y taninos. La presencia de los metabolitos secundarios presentes en las plantas (Tabla 13), se debe posiblemente al desarrollo de diversos mecanismos de defensa (metabolitos secundarios) frente a circunstancias adversas de tipo biótico y abiótico.

Los flavonoides, fenoles, terpenos, aceites esenciales y alcaloides, presentan acción antimicrobiana. Sus mecanismos de acción son variables; por ejemplo, la toxicidad de los fenoles en microorganismos se atribuye a inhibición enzimática por oxidación de compuestos. El modo de acción de los terpenos y aceites esenciales no ha sido dilucidado por completo, pero se postula que pueden causar rompimiento de la membrana a través de los compuestos lipofílicos. De los alcaloides se ha postulado que se intercalan con el DNA, y de las lectinas y polipéptidos se conoce que pueden formar canales iónicos en la membrana microbiana o causar la inhibición competitiva por adhesión de proteínas microbianas a los polisacáridos receptores del hospedero (Cowan, 1999) (Velázquez del Valle *et al.*, 2007).

5.2. DISCUSIÓN

La antracnosis, denominada coloquialmente como “ojo de pollo” en el cultivo de tomate de árbol ha sido atribuida erróneamente a *Colletotrichum gloesporoides*. Sin embargo, en diversas investigaciones realizadas en Ecuador, entre ellas la investigación denominada “Caracterización Morfológica, Patológica y Molecular de la Antracnosis (*C. acutatum*) del Tomate de Árbol y Chocho” realizada por Falconí *et al.*, 2013, en la cual se identificó a *Colletotrichum acutatum* como el agente causal de esta enfermedad.

Durante la investigación la colonia presento coloración blanco-grisácea y conidias fusiformes, lo que concuerda con la descripción realizada por Maita, (2011).

Los mejores resultados se obtuvieron con lavanda y seguida de manzanilla. En el caso de *Lavandula officinalis* se obtuvo la mayor capacidad anti fúngica *contra Colletotrichum sp.*, el mayor porcentaje de inhibición obtenido fue 74,98%. De acuerdo a Marquéz, (2006) *Lavandula officinalis* tiene especificidad en el control anti fúngico, es así que para *Rhizoctonia solani*, *Fusarium equiseti*, *Fusarium oxysporum lycopersici*, *Fusarium graminearum* y *Alternaria alternata*, no se demostró inhibición alguna, inclusive favorece el desarrollo de otros hongos como *Penicillium italicum*, *Penicillium expansum* o *Curvularia hawaiiensis*, sin embargo para el género *Colletotrichum* se demostró valores de inhibición micelial positivos.

Según Sabando *et al.*, 2015, *Matricaria recutita* se ha utilizado también para el control *in vitro* de *Fusarium sp* y *Alternaria sp.*, patógenos en los cuales se alcanzó un porcentaje de inhibición de 73,4% y 85,9%, respectivamente lo que concuerda con los datos obtenidos en la investigación, en la cual se alcanzó 65,28% de inhibición micelial.

El extracto vegetal obtenido de *Lavandula officinalis* obtenido por hidrodestilación contiene un alto contenido de aceite esencial, contenido moderado de alcaloides, fenoles, flavonoides, terpenos y saponinas. Además de un bajo contenido de cetonas, quinonas y taninos. Vanegas *et al.*, 2007 sostiene que los terpenos, entre ellos el

isospintanol presenta actividad anti fúngica contra el hongo *C. acutatum*, mostrando una inhibición micelial del 44,6%, porcentaje superado ampliamente durante la investigación.

CAPÍTULO VI

CONCLUSIONES, BIBLIOGRAFÍA Y ANEXOS

6.1. CONCLUSIONES

Al finalizar la investigación de la “EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA *in vitro* DE CINCO EXTRACTOS VEGETALES (EV) CONTRA *Colletotrichum sp.* AISLADO DE TOMATE DE ÁRBOL (*Solanum betaceum*)” se concluyó que:

- Todos los tratamientos utilizados, es decir los extractos vegetales de manzanilla, chamico, marco, lavanda y ortiga presentaron actividad anti fúngica contra *Colletotrichum sp.*
- Los mejores porcentajes de inhibición (74,98%), biomasa (1066, 67 μg), velocidad de crecimiento radial (2,0 mm/día), número de conidias ($2,92 \times 10^6$), se obtuvo con el tratamiento E4M1 (Extracto vegetal de *L. officinalis* obtenido por hidrodestilación), es decir con la aplicación del extracto vegetal de lavanda obtenido por hidrodestilación, en el caso de la viabilidad de las conidias fue disminuido la aplicación de E4M1 (Extracto vegetal de *L. officinalis* obtenido por hidrodestilación) (44,17%), seguido muy de cerca de E2M1 (Extracto vegetal de *D. derox* obtenido por hidrodestilación) (47,5%).
- El extracto vegetal de *L. officinalis* contiene aceite esencial, alcaloides, cetonas, fenoles, flavonoides, quinonas, saponinas, taninos y terpenos. Éstos compuestos poseen propiedades anti fúngicas, antisépticas, antibacterianas, insecticidas y antimicrobianas.

6.2. BIBLIOGRAFÍA

Agrios, G. (2008). Fitopatología. 5 ed. México: Lumisa.

Alzate, D., Mier, G., Afanador, L., Kurango, D., y Garcia, C. (2009). Evaluación de la fitotoxicidad y la actividad antifúngica contra *Colletotrichum acutatum* de los aceites esenciales de tomillo (*Thymus vulgaris*), limoncillo (*Cymbopogon citratus*), y sus componentes mayoritarios. Revista de la Facultad De Química Farmacéutica, 16 (1), (s.f.), 116-125.

Arauz, L.F. (2000). Mango Anthracnose: Economic Impact and current options for integrated management. Plant Disease, (84), 600-611.

Bayer. (2016). Chamico. Chile. Recuperado de: <http://www.cropscience.bayer.cl/soluciones/fichaproblema.asp?id=3023>

Bayer. (2016). Ortiga. Chile. Recuperado de: <http://www.cropscience.bayer.cl/soluciones/fichaproblema.asp?id=3070>

Bedoya, M., Benavides, H., Pantoja, D., Santacruz, L. (2014). *Antifungal activity of essential oil of Lippia origanoides* H.B.K on the growth of *Phytophthora infestans*. 64 (2):116-24.

Bibdigital. (2017). Principios activos del chamico. Recuperado de: [http://bibdigital.rjb.csic.es/Imágenes/F\(899\)GON_PI_Diaph_2/GON_PI_Diaph_2_087.pdf](http://bibdigital.rjb.csic.es/Imágenes/F(899)GON_PI_Diaph_2/GON_PI_Diaph_2_087.pdf)

Borrero, E. (2007). Protocolo para la Regeneración de Plántulas a partir de Explantes de Hojas de Cinco Variedades de Tomate de Árbol (*Solanum betaceum*). Tesis previa a la obtención el título de B. S. en Biotecnología. Universidad San Francisco de Quito, Quito.

Cameroni, G. (2010). Cadena Hierbas Aromáticas y Especies: Manzanilla. Buenos Aires, Ar.

Cañedo, V., Ames, T. (2004). Manual de Laboratorio para el Manejo de Hongos Entomopatógenos. Lima, Perú: CIPOTATO.

- Carvajal, M., Montes, R., Cruz, V., Flores, H., Bermúdez, K., Sandoval, G., Bravo, L., Martínez, G., García, R., Zilch, S. (2000). Propiedades Antifúngicas en Plantas Superiores. Análisis Retrospectivo de Investigaciones. Revista Mexicana de Fitopatología, julio-diciembre, 125- 131.
- Celis, A., Mendoza, C., Pachón, M., Cardona, J., Delgado, W. y Cuca, L. (2008). Extractos vegetales utilizados como biocontroladores con énfasis en la familia Piperaceae. Agronomía Colombiana, 26(1), (s.f.), 97-106.
- CORPOICA (Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria). (2002). IV Seminario Nacional de Frutales de Clima Frío. Medellín, Co.
- Darvas, J. y Kotze, J. (1987). Enfermedades de la fruta de aguacate y su control en Sudáfrica. South African Avocado Grower's Association Yearbook 10: 117-119.
- Davicino, R., Mattar, M., Casali, Y., Correa, S., Pettenati, E. y Micalizzi, B. (2007). Actividad antifúngica de extractos de plantas usadas en medicina popular en Argentina. Rev. Perú. biol. 14(2): 247-251.
- Domínguez, X. Química Orgánica experimental. Limusa. México. 1992
- Ecovisiones. (2017). Principios activos de la manzanilla. Recuperado de: http://www.ecovisiones.cl/ecovida/hierbas/MANZANILLA_1.htm
- Falconi, C., Visser, R.G.F. y Heusden, A.W. (2013). Phenotypic, Molecular, and Pathological Characterization of *Colletotrichum acutatum* Associated with Andean Lupine and Tamarillo in the Ecuadorian Andes. Plant Disease, 97 (6), 819 - 827.
- Fonnegra, R. y Jiménez, S. (2007). Plantas medicinales aprobadas en Colombia. Medellín, Co.: Universidad de Antioquia.
- Fundación Botánica de los Andes. (2016). Plantas Nativas de la Hoya de Quito. Ecuador. Recuperado de: <http://plantasnativas.visitavirtualjbjq.com/index.php/epoca/xviii-joseph-de-jussieu/8-ambrosia-arborescens>
- Herbotecnia. (2016). Argentina. Recuperado de: <http://www.herbotecnia.com.ar/exo-chamico.html>

- Herbotecnia. (2016). Lavanda. Argentina. Recuperado de:
<http://www.herbotecnia.com.ar/exotica-lavanda.html>
- Hierbitas. (2017). Principios activos de la ortiga. Recuperado de:
http://www.hierbitas.com/nombrecomun/ORTIGA_MAYOR.htm
- Hierbitas. (2017). Principios activos de lavanda. Recuperado de:
<http://www.hierbitas.com/nombrecomun/Lavanda.htm>
- Ibarra, M. y Paredes, E. (2013). Eficiencia antibacteriana in vitro de marco (*Ambrosia arborescens* Mill.) y paico (*Chenopodium ambrosoides* L.) en una formulación cosmética (tesis previa a la obtención del Título de Ingenieros en Biotecnología de los Recursos Naturales). Universidad Politécnica Salesiana, Quito.
- INEC (INSTITUTO NACIONAL DE ESTADÍSTICAS Y CENSOS, Ec.). (2013). Censo Nacional Agropecuario-Ecuador 2010. Quito, Ec. Recuperado de
http://inec.gob.ec/estadisticas/?option=com_content&view=article&id=111&Itemid=126
- INEC (INSTITUTO NACIONAL DE ESTADÍSTICAS Y CENSOS, Ec.). (2015). Encuesta de Superficie y Producción Agropecuaria Continua (ESPAC) 2015- Quito, Ec. Recuperado de
http://www.ecuadorencifras.gob.ec//documentos/web-inec/Estadisticas_agropecuarias/espac/espac_20142015/2015/Presentacion%20de%20resultados%20ESPAC_2015.pdf
- Instituto Nacional de Meteorología e Hidrología. (2014). Registro anual de observaciones Meteorológicas. Estación Agrometeorológica Querochaca. Universidad Técnica de Ambato, Facultad de Ciencias Agropecuarias. Ecuador- Cevallos.
- Jaramillo, M., Álvarez, J., Marín, M. (2012). Características de los virus asociados a la virosis del tomate de árbol (*Solanum betaceum*) en Colombia. Revista Lasallista de Investigación, 9 (1), (s.f.), 115-127.
- Losmedicamentos. (2016). Recuperado de:
<https://www.losmedicamentos.net/planta/chamico>

- Maita, S. (2011). Manejo del “ojo de pollo” o antracnosis (*Colletotrichum acutatum* *Simmonds*) en el cultivo del tomate de árbol (*Solanum betacea* Cav). Cuenca, Ec.: Editorial Universitaria Católica de Cuenca.
- Marquéz, M. (2016). Determinación de la actividad antifúngica y Composición química de los aceites esenciales (Tesis previa a la obtención del título de Ingeniera Agrónoma y del Medio Rural). Universidad Politécnica de Valencia, Valencia, Esp.
- Martínez, J. (2009). Virus asociados a la enfermedad de la virosis del tomate de árbol (*Solanum betaceum*) en los departamentos de Nariño y Putumayo de Colombia. P. 226. XV Congreso Latinoamericano y XVIII Congreso Chileno de Fitopatología. Santiago de Chile.
- Méndez, S. (2015). Extracto de aguacate criollo para inhibir el desarrollo de hongos fitopatógenos. Tesis de Maestría en Ciencias en Ciencia y Tecnología agroalimentaria. México, DF.
- Muñoz, F. (2002). Plantas medicinales y aromáticas: estudio, cultivo y procesado. México, D.F.: Aedos (<https://books.google.com.ec/books?id=WmX5TibuSrIC&pg=PA217&dq=habitat+de+la+manzanilla&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwirn87U7enQAhVIKyYKHdv2C3QQ6AEIKTAB#v=onepage&q=habitat%20de%20la%20manzanilla&f=false>)
- Navarrete, A. y Ocampo, Z. (2010). Usos medicinales y alimenticios de la ortiga (*Urtica dioica* L.). Cuernavaca, Mx. Recuperado de: http://www.tlahui.com/medic/medic31/urtica_dioica.htm
- Olivares, B., Chirinos, J. y Guevara, E. (2013). Efectividad Biológica de Extractos Vegetales en el Control In Vitro de la Bacteria Fitopatógena *Xanthomona*. *Multiciencias*, 13(2), Abril-Junio, 115-121.
- Pardo, J. (2002). Patentabilidad de los extractos vegetales. Universidad de Barcelona, España. Recuperado de http://www.ub.edu/centrepatents/pdf/doc_dilluns_CP/pardo_patentesextractosplantas.pdf

- Parra, L. (2008). Relación entre infecciones quiescentes de *Colletotrichum gloeosporoides* y los diferentes estadios fenológicos del fruto de mango (*Mangifera indica* L) variedad hilacha. Tesis previa a la obtención del Título de Microbióloga Agrícola y Veterinaria. Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá.
- Pérez, A., Rojas, J., Chamorro L. y Pérez, K. (2011). Evaluación in vitro de la actividad inhibitoria de extractos vegetales sobre aislados de *Colletotrichum spp.* Acta Agronómica, 60(2), (s.f.), 158-164.
- Pérez, W., Bernal, B., Martin, A. y Romeu, C. (2000). Estudio preliminar de dos extractos vegetales para el control in vitro del hongo *Corynespora cassiicola* (Berk & Curt) Wei. Fitosanidad, 4(1-2), Marzo-Junio, 43-46.
- Permatree. (2017). Principios activos de Ambrosia arborescens. Recuperado de: <https://permatree.wordpress.com/2016/06/09/ambrosia-arborescens/>
- Porcuna, J. (2010). La Ortiga. Valencia, Es. Recuperado de: http://www.agroecologia.net/recursos/Revista_Ae/Ae_a_la_Practica/fichas/N2/Revista_AE_N%C2%BA2_ficha_planta.pdf
- Prusky, D., Kobilier, I., Jacoby, B., Sims, J.J. y Midland, S.L. (1992). Efecto de los inhibidores de la actividad lipoxigenasa y su posible relación con la latencia de *Colletotrichum gloeosporioides* en frutos de aguacate. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 27 (1), 269-279.
- Revelo, J., Mora, E., Gallegos, P. y Garcés, S. (2008). Enfermedades, Nematodos e Insectos Plaga Del Tomate De Árbol (*Solanum Betaceum Cav.*). Quito: Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias – SENESCYT.
- Revelo, J., Pérez, E. y Maila, M. (2004). Manual Guía de Capacitación Del Cultivo Ecológico De Tomate de Árbol en Ecuador. Quito: Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias.
- Rivera, G. (2007). Conceptos introductorios a la fitopatología. San José, Costa Rica: EUNED.

- Rodríguez, A., Morales, D. y Ramírez, M. (2000). Efecto de extractos vegetales sobre el crecimiento *in vitro* de hongos fitopatógenos. *Cultivos Tropicales*, 21(2), Abril-Junio, 79-82.
- Rubio, M. (1992). Cultivo, industrialización y comercialización de la manzanilla (*Matricaria recutita* L.). *Anales de la SAIPA: Sociedad Argentina para la Investigación de Productos Aromáticos*, (IX), 154-173.
- Ruiz, S., Coy, P., Pellicer, M., Ramírez, A. (1995). *Manual de Prácticas de Fisiología Animal y Veterinaria*. Murcia, Sp.
- Sabando, M., Fon-Fay, F., Barzola, S., Matínez, M., Neira, J. y Rojas, J. (2015). Efecto inhibitorio de los aceites esenciales de *Mentha spicata* y *Matricaria recutita* frente a *Fusarium sp.* y *Alternaria sp.* *Ciencia y Tecnología de Alimentos*, (25)(2), mayo-agosto, 51-55.
- Sharapin, N. (2000). *Fundamentos de tecnología de productos fitoterapéuticos*. Santa Fé de Bogotá, Co.: Impreandes.
- Stainer, R., Ingraham, J., Wheelis, M. y Painter, P. (1992). *Microbiología*. 2 Ed. Barcelona, Sp.: Reverté.
- Tayupanta, V. (2012). Control in vitro de Botritis (*Botrytis cinerea*), Mildiu (*Bremia lactucae*) y Esclerotinia (*Sclerotinia sclerotiorum*) en lechuga (*Lactuca sativa*), usando extractos de cola de caballo (*Equisetum arvense*), ortiga (*Urtica dioica* L.), ruda (*Ruta graveolens*) y tomillo (*Thymus vulgaris*). Tesis previa a la obtención el título de Ingeniera Agropecuaria. Universidad Politécnica Salesiana, Quito.
- Tecnoagro. (2016). Lavanda. México. Recuperado de: <http://tecnoagro.com.mx/revista/2014/no-94/lavanda-lavandula-angustifolia-mill-lamiaceae/>
- Tripathi P, Dubey N. (2004). Exploitation of natural products as an alternative strategy to control postharvest fungal rotting of fruit and vegetables. *Postharvest Biol Tec*, 32 (3), (s.f.), 235-245.

Vanegas, Nancy, Arango, N., García, C., Saez Vega, J., Rojano, B. (2007). Actividad antifúngica del isoespintanol sobre hongos del genero *Colletotrichum*. Scientia Et Technica, XIII abril-Sin mes, 279-280.

Velázquez del Valle, M., Bautista, S., Hernández, A. (2007). Prospectiva de extractos vegetales para controlar enfermedades postcosecha hortofrutícolas. Revista Fitotecnia Mexicana, 30(), 119-123.

Voigt, R. (1982). Tratado de tecnología Farmacéutica. España: Acriba.

Warener, M. (2009). Aromaterapia: belleza, bienestar y salud. Hispanoamerica.

Wharton, P., Diéguez, J. (2004). The biology of *Colletotrichum acutatum*. Anales del Jardín Botánico de Madrid, 61(1), 3-22.

6.3. ANEXOS

Anexo 1. Datos obtenidos en Porcentaje de Inhibición Micelial (% IM) a las 48 horas.

TRATAMIENTOS	REPETICIONES			Sumatoria	Media
	R1	R2	R3		
E1M1	51,43	58,06	60,00	169,49	56,50
E1M2	57,14	48,39	68,57	174,10	58,03
E2M1	20,00	16,13	22,86	58,99	19,66
E2M2	17,14	12,90	20,00	50,04	16,68
E3M1	14,90	16,13	22,86	53,89	17,96
E3M2	14,29	19,35	11,43	45,07	15,02
E4M1	71,43	74,19	74,29	219,91	73,30
E4M2	57,14	45,16	54,29	156,59	52,20
E5M1	20,00	19,35	17,14	56,49	18,83
E5M2	14,29	19,43	17,16	50,88	16,96
T1	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

Anexo 2. Datos obtenidos de Velocidad de Crecimiento Radial (VCR) a las 48 horas.

TRATAMIENTOS	REPETICIONES			Sumatoria	Media
	R1	R2	R3		
E1M1	4,25	3,25	3,5	11	3,67
E1M2	3,75	4	2,75	10,5	3,5
E2M1	7	6,5	6,75	20,25	6,75
E2M2	7,25	6,75	7	21	7
E3M1	7,5	6,5	6,75	20,75	6,92
E3M2	7,5	6,25	7,75	21,5	7,17
E4M1	2,5	2	2,25	6,75	2,25
E4M2	3,75	4,25	4	12	4
E5M1	7	6,25	7,25	20,5	6,83
E5M2	7,5	6,25	7,25	21	7
T1	8,75	7,75	8,75	25,25	8,42

Anexo 3. Datos obtenidos en Porcentaje de Inhibición Micelial (% IM) a las 96 horas.

TRATAMIENTOS	REPETICIONES			Sumatoria	Media
	R1	R2	R3		
E1M1	60,87	64,71	62,69	188,27	62,76
E1M2	59,42	67,75	68,66	195,83	65,28
E2M1	24,64	23,63	28,36	76,63	25,54
E2M2	15,94	26,47	22,39	64,80	21,60
E3M1	27,54	22,06	13,43	63,03	21,01
E3M2	23,19	13,24	17,91	54,34	18,11
E4M1	76,81	75,00	73,13	224,94	74,98
E4M2	60,87	57,35	62,69	180,91	60,30
E5M1	15,94	13,24	15,93	45,11	15,04
E5M2	14,49	10,29	17,91	42,69	14,23
T1	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

Anexo 4. Datos obtenidos en Velocidad de Crecimiento Radial (VCR) a las 96 horas

TRATAMIENTOS	REPETICIONES			Sumatoria	Media
	R1	R2	R3		
E1M1	2,50	2,75	2,75	8,00	2,67
E1M2	3,25	1,50	2,50	7,25	2,42
E2M1	6,00	6,50	5,25	17,75	5,92
E2M2	7,25	5,75	6,00	19,00	6,33
E3M1	5,00	6,75	7,75	19,50	6,50
E3M2	5,75	8,50	6,00	20,25	6,75
E4M1	1,50	2,25	2,25	6,00	2,00
E4M2	3,00	3,00	2,25	8,25	2,75
E5M1	7,50	8,50	7,00	23,00	7,67
E5M2	7,25	9,00	6,50	22,75	7,58
T1	8,50	9,25	8,00	25,75	8,58

Anexo 5. Datos obtenidos en Porcentaje de Inhibición Micelial (% IM) a las 144 horas

TRATAMIENTOS	REPETICIONES			Sumatoria	Media
	R1	R2	R3		
E1M1	52,63	51,55	45,74	149,92	49,97
E1M2	50,53	55,67	52,13	158,33	52,78
E2M1	24,21	22,68	25,53	72,42	24,14
E2M2	17,89	23,71	22,34	63,94	21,31
E3M1	25,26	24,74	14,89	64,89	21,63
E3M2	23,16	13,53	20,21	56,90	18,97
E4M1	66,32	63,92	59,57	189,81	63,27
E4M2	48,42	48,45	43,62	140,49	46,83
E5M1	14,74	12,37	11,70	38,81	12,94
E5M2	10,53	14,43	10,64	35,60	11,87
T1	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

Anexo 6. Datos obtenidos en Velocidad de Crecimiento Radial (VCR) a las 144 horas

TRATAMIENTOS	REPETICIONES			Sumatoria	Media
	R1	R2	R3		
E1M1	4,50	5,75	6,50	16,75	5,58
E1M2	4,75	5,25	6,00	16,00	5,33
E2M1	5,00	5,75	5,50	16,25	5,42
E2M2	5,00	6,00	5,25	16,25	5,42
E3M1	5,25	5,00	5,50	15,75	5,25
E3M2	5,00	5,25	5,00	15,25	5,08
E4M1	4,00	4,50	5,00	13,50	4,50
E4M2	5,50	5,25	7,00	17,75	5,92
E5M1	5,75	6,50	6,50	18,75	6,25
E5M2	6,50	5,50	6,25	18,25	6,08
T1	6,50	7,25	7,50	21,25	7,08

Anexo 7. Datos obtenidos de Biomasa (B) a las 144 horas

TRATAMIENTOS	REPETICIONES			Sumatoria	Media
	R1	R2	R3		
E1M1	1100,00	1300,00	1500,00	3900,00	1300,00
E1M2	1200,00	1000,00	1200,00	3400,00	1133,00
E2M1	1800,00	1900,00	1300,00	5000,00	1667,00
E2M2	1800,00	2100,00	2200,00	6100,00	2033,00
E3M1	2000,00	1700,00	1900,00	5600,00	1867,00
E3M2	2200,00	2100,00	2000,00	6300,00	2100,00
E4M1	900,00	1200,00	1100,00	3200,00	1067,00
E4M2	1300,00	1700,00	1600,00	4600,00	1533,00
E5M1	2100,00	2200,00	2200,00	6500,00	2167,00
E5M2	2200,00	2300,00	2100,00	6600,00	2200,00
T1	2300,00	2500,00	2300,00	7100,00	2367,00

Anexo 8. Datos obtenidos en Número de Conidias (C) a las 144 horas

TRATAMIENTOS	REPETICIONES			Sumatoria	Media
	R1	R2	R3		
E1M1	3,10	3,75	3,15	10,00	3,33
E1M2	3,80	4,25	4,95	13,00	4,33
E2M1	4,75	5,05	5,75	15,55	5,18
E2M2	5,25	5,55	5,25	16,05	5,35
E3M1	6,25	7,90	8,40	22,55	7,52
E3M2	6,65	7,70	8,00	22,35	7,45
E4M1	2,90	3,60	2,25	8,75	2,92
E4M2	3,90	3,70	3,25	10,85	3,62
E5M1	7,00	5,75	8,40	21,15	7,05
E5M2	6,90	8,20	8,25	23,35	7,78
T1	7,50	9,25	8,60	25,35	8,45

Anexo 9. Datos obtenidos en Viabilidad de las Conidias (VC) a las 144 horas

TRATAMIENTOS	REPETICIONES			Sumatoria	Media
	R1	R2	R3		
E1M1	57,50	52,50	50,00	160,00	53,33
E1M2	67,50	65,00	60,00	192,50	64,17
E2M1	47,50	52,50	42,50	142,50	47,50
E2M2	75,00	62,50	67,50	205,00	68,33
E3M1	70,00	60,00	67,50	197,50	65,83
E3M2	80,00	75,00	70,00	225,00	75,00
E4M1	42,50	52,50	37,50	132,50	44,17
E4M2	47,50	50,00	52,50	150,00	50,00
E5M1	85,00	77,50	75,00	237,50	79,17
E5M2	87,50	82,50	90,25	260,25	86,75
T1	95,00	87,50	92,50	275,00	91,67

Anexo 10. Equipo de Hidrodestilación Clevenger



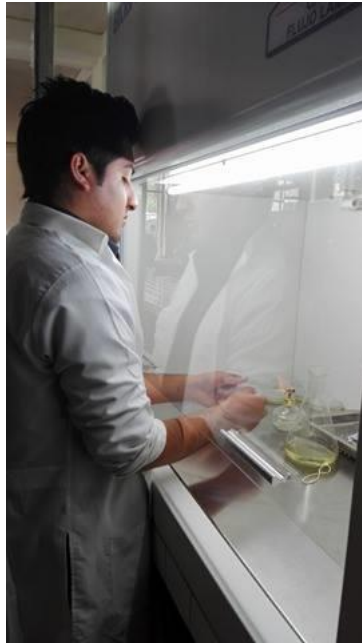
Anexo 11. Frutos de *S. betaceum* infectados con *Colletotricum* sp.



Anexo 12. Medio de cultivo APD



Anexo 13. Dispensación de medio de cultivo APD en cajas Petri



Anexo 14. Colonias de *Colletotrichum sp.*



CAPÍTULO VII

PROPUESTA

7.1 TÍTULO

Uso de extracto de *Lavandula officinalis* para el manejo de *Colletotrichum sp.*

7.2 DATOS INFORMATIVOS

El presente estudio de investigación se llevará a cabo en la Granja Experimental Docente "Querochaca" propiedad de la Universidad Técnica de Ambato, Facultad de Ciencias Agropecuarias, ubicada en el cantón Cevallos, provincia de Tungurahua. Sus coordenadas geográficas son 01° 21´ de latitud Sur y 78° 36´ de longitud Oeste, a la altitud de 2865 msnm.

Debido a la tipología de la investigación se utilizará en el Laboratorio de Sanidad Vegetal y el Laboratorio de Botánica.

7.3 ANTECEDENTES DE LA PROPUESTA

El extracto vegetal de *Lavandula officinalis* contiene aceite esencial, alcaloides, cetonas, fenoles, flavonoides, quinonas, saponinas, taninos y terpenos. En a investigación realizada se obtuvo los mejores porcentajes de inhibición (74,98 %), biomasa (1066,67 µg), velocidad de crecimiento radial (2,0 mm/día), número de conidias ($2,92 \times 10^6$), viabilidad de las conidias (44,17 %), con la aplicación de éste.

7.4 JUSTIFICACIÓN E IMPORTANCIA

El presente trabajo de investigación se realizará debido a que en la actualidad el manejo de "ojo de pollo" en el cultivo de tomate de árbol está ligado al uso indiscriminado de pesticidas, deteriorando de esta manera la calidad de la fruta, afectando al medio ambiente y a la salud de los productores y consumidores. Dentro del uso progresivo

de técnicas alternativas de manejo de plagas y enfermedades se encuentran los extractos vegetales, los cuales permiten reducir el uso de pesticidas y de esta manera elevar la rentabilidad de los cultivos, la calidad de la fruta, cuidar el medio ambiente y la salud de productores y consumidores.

7.5 OBJETIVO

Aplicar extracto de *Lavandula officinalis* obtenido por hidrodestilación para el control de *Colletotrichum sp.*

7.6 ANÁLISIS DE FACTIBILIDAD

Las principales razones por las cuales el uso de extractos vegetales en la agricultura constituyen una alternativa para el manejo de plagas y enfermedades de los cultivos son: simplicidad en obtención, bajo costo de adquisición, bajo/nulo riesgo para la salud de productores y consumidores, son productos biodegradables y se incorporan a la naturaleza con facilidad.

7.7 FUNDAMENTACIÓN

La falta de conocimiento y la deficiente investigación acerca de métodos alternativos de manejo de plagas u enfermedades, ha sido las principales limitantes para el aprovechamiento de la propiedad antifúngica que poseen las plantas mediante la aplicación de extractos vegetales. En la actualidad, la agricultura se ha encaminado a procesos de producción encaminados a reducir el uso de pesticidas, mediante la aplicación de diferentes alternativas para el manejo de plagas y enfermedades, entre las cuales se encuentran los extractos vegetales, aplicados para el manejo de insectos y hongos fitopatógenos.

El uso de extractos vegetales permiten reducir el uso de pesticidas y de esta manera mejorar la rentabilidad del cultivo, reducir los residuos tóxicos de los pesticidas en las frutas y cuidar el medio ambiente y la salud de los productores y consumidores.

7.8 METODOLOGÍA, MODELO OPERATIVO

Recolección de especies vegetales

Se recolectaran 5 kg de *L. officinalis* (follaje), cuando éstas se encuentren en etapa de floración ya que en este estadio se tiene la máxima expresión de metabolitos secundarios de las plantas.

Obtención por arrastre de vapor

1. Seleccionar las partes vegetales que se encuentran libres de enfermedades.
2. Eliminar los restos de suelo y partes vegetales muertas.
3. Lavar las partes vegetales por 20 minutos, usando agua corrida.
4. Colocar agua y material vegetal en proporción 1:2, en el destilador Clevenger.
5. Se debe considerar que la temperatura del destilador debe encontrar a 120 °C.
6. Almacenar el extracto en frascos color ámbar y protegido del sol.

Aplicación

La aplicación se debe realizar por pulverización en forma directa al área afectada.

7.9 PREVISIÓN DE LA EVALUACIÓN

Después de tres meses, se hará una evaluación del alcance de la propuesta en la zona de influencia donde se desarrolló la investigación.