

UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA
SEDE CUENCA

CARRERA DE INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA
DE LOS RECURSOS NATURALES

*Trabajo de titulación previo a la
obtención del título de Ingeniera en
Biotecnología de los Recursos Naturales*

TRABAJO EXPERIMENTAL:

**“EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA IN VIVO DEL ACEITE
ESENCIAL DE TOMILLO (*Thymus vulgaris*) EN DIFERENTES
CONCENTRACIONES CONTRA *Colletotrichum acutatum* EN CULTIVOS DE
TOMATE DE ÁRBOL (*Solanum betaceum*)”**

AUTORA:

JHULIANA MARIBEL JIMÉNEZ TAMAYO

TUTOR:

ING. VICENTE HERNÁN AVILÉS LANDÍVAR, MSc.

CUENCA - ECUADOR

2020

CESIÓN DE DERECHOS DE AUTOR

Yo, Jhuliana Maribel Jiménez Tamayo con documento de identificación N° 1104226889, manifiesto mi voluntad y cedo a la Universidad Politécnica Salesiana la titularidad sobre los derechos patrimoniales en virtud de que soy autora del trabajo de titulación: **“EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA IN VIVO DEL ACEITE ESENCIAL DE TOMILLO (*Thymus vulgaris*) EN DIFERENTES CONCENTRACIONES CONTRA *Colletotrichum acutatum* EN CULTIVOS DE TOMATE DE ÁRBOL (*Solanum betaceum*)”**, mismo que ha sido desarrollado para optar por el título de: *Ingeniera en Biotecnología de los Recursos Naturales*, en la Universidad Politécnica Salesiana, quedando la Universidad facultada para ejercer plenamente los derechos cedidos anteriormente.

En aplicación a lo determinado en la Ley de Propiedad Intelectual, en mi condición de autora me reservo los derechos morales de la obra citada anteriormente. En concordancia suscribo este documento en el momento que hago entrega del trabajo final en formato digital a la Biblioteca de la Universidad Politécnica Salesiana.

Cuenca, junio del 2020



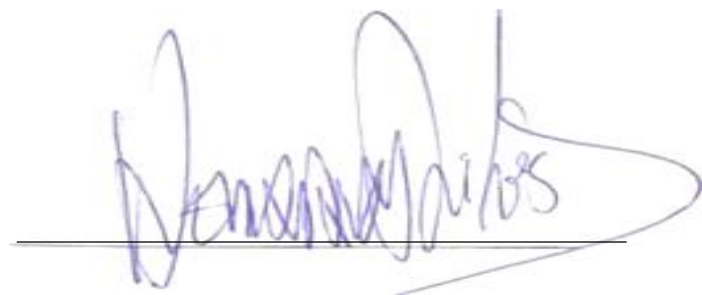
Jhuliana Maribel Jiménez Tamayo

C.I. 110422688-9

CERTIFICACIÓN

Yo, declaro que bajo mi tutoría desarrollado el trabajo de titulación: **“EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA IN VIVO DEL ACEITE ESENCIAL DE TOMILLO (*Thymus vulgaris*) EN DIFERENTES CONCENTRACIONES CONTRA *Colletotrichum acutatum* EN CULTIVOS DE TOMATE DE ÁRBOL (*Solanum betaceum*)”**, realizado por Jiménez Tamayo Jhuliana Maribel, obteniendo el *Trabajo Experimental* que cumple con todos los requisitos estipulados por la Universidad Politécnica Salesiana.

Cuenca, junio del 2020



Ing. Vicente Hernán Avilés Landívar, MSc.

C.I. 0101401040

DECLARATORIA DE RESPONSABILIDAD

Yo, Jhuliana Maribel Jiménez Tamayo con documento de identificación N° 1104226889, autora del trabajo de titulación: **“EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA IN VIVO DEL ACEITE ESENCIAL DE TOMILLO (*Thymus vulgaris*) EN DIFERENTES CONCENTRACIONES CONTRA *Colletotrichum acutatum* EN CULTIVOS DE TOMATE DE ÁRBOL (*Solanum betaceum*)”**, certifico que el total contenido del *Trabajo Experimental* es de mi exclusiva responsabilidad y autoría.

Cuenca, junio del 2020



Jhuliana Maribel Jiménez Tamayo

C.I. 1104226889

DEDICATORIA

A mis padres, los cuales día a día han luchado a mi lado, para que no deje escapar mis sueños, por creer en mí, y amarme de una manera incondicional, este logro es de ustedes, porque hacen tuyas mis alegrías.

Por impartirme los valores y enseñanzas necesarias para enfrentarme a toda clase de obstáculos, por jamás soltar mi mano aun cuando lo merecía.

AGRADECIMIENTO

A ti Rafael, por ser el hombre más importante en mi vida, el padre más amoroso, la persona más luchadora y bondadosa que conozco, gracias por creer en mí y siempre alentarme en los momentos difíciles.

A ti Hilda, por ser mi motivación, una mujer y madre en todo el sentido de la palabra, por forjar en mi un carácter de lucha y perseverancia, ser la mejor amiga con la que cualquier hija podría soñar y principalmente por dejar tus sueños a un lado para velar los míos.

A ti Brian, por ser un buen hermano, por perdonarme siempre, cuidar de mí y por nunca dejarme sola cuando te he necesitado.

A tu memoria kike, por acompañarme durante todas mis largas noches de estudio, y hacer mis años universitarios una de las etapas más alegres de mi vida.

A mi familia, por siempre alentarme y brindarme su apoyo.

A mi tutor de tesis MSc. Hernán Avilés Landivar por su guía, esfuerzo, paciencia y dedicación en este trabajo de investigación.

A mis maestros, por impartirme sus conocimientos y estar prestos a resolver mis dudas.

A mis amigos que siempre estuvieron para darme una palabra de aliento y hacer de mi carrera universitaria una experiencia divertida y maravillosa.

RESUMEN

El tomate de árbol (*Solanum betaceum*), es considerado uno de los principales frutales del Ecuador, pero su alta vulnerabilidad a plagas y enfermedades derivando el excesivo consumo de agroquímicos, lo cual se ve reflejado en cifras que resultan alarmantes. Pues, los químicos todavía autorizados han creado fenómenos de resistencia en los patógenos. Razón por la cual, la presente investigación tiene como principal objetivo, evaluar tres concentraciones de aceite esencial de Tomillo contra la antracnosis (*Colletotrichum acutatum*) mediante un estudio in vivo para determinar su capacidad antifúngica sobre cultivos de tomate de árbol. Y de esta manera crear alternativas que permitan conseguir un control efectivo de las podredumbres.

La investigación se llevó a cabo en la Unidad Educativa Agronómico Salesiano, ubicada en el cantón Paute, se aplicó tres concentraciones de AET, en cultivos jóvenes, durante 4 meses consecutivos, se utilizó un diseño completamente al azar, realizando tres repeticiones por tratamientos, un testigo referencial y uno absoluto, posteriormente se determinó como variables de respuesta, la incidencia y severidad de la antracnosis en las hojas y tallos de la planta, para finalmente realizar un análisis estadístico que permita determinar dicho efecto.

Los resultados fueron positivos únicamente para el tratamiento de mayor concentración de AET, a diferencia de los otros dos que, si bien mostraron una disminución en ambos factores, no fue lo suficiente significativo como para concluir que dichas concentraciones tuvieron un efecto sobre el desarrollo de la enfermedad.

Palabras clave: Tomate de árbol, antracnosis, *Colletotrichum*, incidencia, severidad, actividad antifúngica, aceite esencial, tomillo.

ABSTRACT

The tree tomato (*Solanum betaceum*), is considered one of the main fruit trees of Ecuador, but its high vulnerability to pests and diseases to derive the excessive consumption of agrochemicals, which is reflected in figures that are alarming. Well, the chemicals still authorized have created resistance phenomena in pathogens. This main objective is why this research is to evaluate three concentrations of Thyme essential oil against anthracnose (*Colletotrichum acutatum*) through an in vivo study to determine its antifungal capacity on tree tomato crops. And in this way create alternatives that allow to achieve effective control of the rots.

The research was carried out in the Unidad Educativa Agronómico Salesiano, located in the canton Paute, three concentrations of TEO were applied, for 4 consecutive months, a completely random design was used, performing three repetitions by treatments, a referential witness and an absolute one, subsequently determined as response variables the effect of treatments on the incidence and severity of anthracnosis in the leaves and stems of the plant, in order to finally carry out a statistical analysis to determine that effect.

The results were positive only for the treatment of higher concentrations of TEO, unlike the other two which, while showing a decrease in both factors, was not significant enough to conclude that these concentrations influenced the development of the disease.

Keywords: Tree tomato, anthracnose, *Colletotrichum*, incidence, severity, antifungal activity, thyme essential oil.

SIGLAS Y ACRÓNIMOS

AE: Aceite esencial

AET: Aceite esencial de tomillo

ATP: Adenosín trifosfato

CMF: Concentración mínima fungicida

K: Potasio

MS: Metabolitos secundarios

TEO: Thyme essential oil

ÍNDICE DE CONTENIDO

CESIÓN DE DERECHOS DEL AUTOR.....	II
CERTIFICACION	III
DECLARATORIA DE RESPONSABILIDAD.....	IV
DEDICATORIA	V
AGRADECIMIENTO.....	VI
RESUMEN.....	VII
ABSTRACT	VIII
SIGLAS Y ACRÓNIMOS.....	IX
ÍNDICE DE CONTENIDO	X
ÍNDICE DE TABLAS	XIV
INDICE DE FIGURAS.....	XVI
ÍNDICE DE ANEXOS	XVIII
CAPITULO 1	1
1.1 INTRODUCCIÓN.....	1
1.2 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	3
1.3 ANTECEDENTES.....	4
1.4 JUSTIFICACIÓN	7
1.5 OBJETIVOS.....	8
1.5.1 <i>Objetivo general</i>	8

1.5.2 <i>Objetivos específicos</i>	8
1.6 HIPÓTESIS	8
1.7 DELIMITACIÓN GEOGRÁFICA DEL ESTUDIO	9
CAPITULO 2	11
2.1 MARCO DE REFERENCIA	11
2.1.1 <i>Especies vegetales</i>	11
2.1.1.1 Tomate de árbol (<i>Solanum Betaceum</i>)	11
2.1.1.2 Tomillo (<i>Thymus Vulgaris</i>)	16
2.1.2 <i>Antracnosis</i>	19
2.1.2.1 Generalidades	19
2.1.2.2 Manejo de la enfermedad	20
2.1.3 <i>Colletotrichum</i>	20
2.1.3.1 Generalidades	20
2.1.3.2. <i>Colletotrichum acutatum</i>	22
2.1.4. <i>Aceites esenciales</i>	24
2.1.4.1 Definición	24
2.1.4.2. Actividad biocontroladora de los AE	24
2.1.4.3 Aceite esencial de tomillo	25
• Composición química	25
CAPITULO 3	27
3.1 MATERIALES Y MÉTODOS	27
3.1.1. <i>Tipo de Investigación</i>	27
3.1.2. <i>Examinación del área experimental</i>	27
3.1.3. <i>Diagnóstico del cultivo y de la enfermedad</i>	29
3.1.4 <i>Diseño Experimental</i>	29
3.1.5. <i>Cualidades de la unidad experimental</i>	29
3.1.6. <i>Determinación de las concentraciones de AET para su aplicación</i>	30

3.1.6.1 Preparación del AET en diferentes concentraciones.....	31
3.1.6.2. Aplicación de los tratamientos a cultivos de tomate de árbol	31
3.1.6.3. Repeticiones de los tratamientos	33
3.1.6.4 Manejo cultural del cultivo.....	34
<i>3.1.7 Registro de características específicas de la planta antes durante y después del tratamiento</i>	
<i>para monitoreo de Antracnosis</i>	<i>35</i>
3.1.7.1 Variables de estudio	35
CAPITULO 4	40
4.1 RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	40
<i>4.1.1 Determinación de tres concentraciones de AET para su aplicación en cultivos de tomate de</i>	
<i>árbol.....</i>	<i>40</i>
<i>4.1.2 Registro de características de la planta para el monitoreo de antracnosis</i>	<i>42</i>
4.1.2.1 Test de Shapiro-Wilks para incidencia y severidad	42
• Hojas	42
4.1.2.2. Antracnosis en hojas	45
4.1.2.3. Antracnosis en tallos.....	47
<i>4.1.3 Comparación las características obtenidas en la base de datos.....</i>	<i>48</i>
4.1.3.1 Efecto del AET en diferentes concentraciones sobre la incidencia y severidad de antracnosis en hojas	
.....	48
4.1.3.2 Efecto de los tratamientos incidencia y severidad de antracnosis en tallos	51
4.1.3.4 Incidencia y severidad de antracnosis en hojas por bloques	54
• Incidencia	54
4.1.3.3 Incidencia y severidad de antracnosis en tallos por bloques	56
CAPÍTULO 5	59
5.1 CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	59
<i>5.1.1 Conclusiones</i>	<i>59</i>
5.1.2 RECOMENDACIONES	60

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	62
ANEXOS.....	68

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Clasificación taxonómica de <i>Solanum betaceum</i> Cav.	12
Tabla 2. Principales plagas de y enfermedades <i>S. betaceum</i>	15
Tabla 3. Clasificación taxonómica del tomillo.	17
Tabla 4. Composición química de las hojas de tomillo.	19
Tabla 5. Taxonomía del género <i>Colletotrichum</i>	22
Tabla 6. Escala diafragmática para la evaluación de antracnosis en tomate de árbol	37
Tabla 7. Concentración de los componentes de cada tratamiento.	40
Tabla 8. ANOVA para la incidencia de antracnosis en hojas de tomate de árbol bajo el efecto de los tratamientos de AET.....	46
Tabla 9. Análisis de variancia para la severidad en hojas de antracnosis en tomate de árbol bajo el efecto de los tratamientos de AET	47
Tabla 10. Análisis de variancia para la incidencia en tallos de antracnosis en tomate de árbol bajo el efecto de los tratamientos de AET	47
Tabla 11. Análisis de variancia para la severidad en hojas de antracnosis en tomate de árbol bajo el efecto de los tratamientos de AET	48
Tabla 12. Efecto de los tratamientos en la incidencia en hojas de antracnosis en tomate de árbol. Duncan 5%.	49
Tabla 13. Efecto de los tratamientos en la severidad en hojas de antracnosis en tomate de árbol. Duncan 5%.	50
Tabla 14. Efecto de los tratamientos en la incidencia en tallos de antracnosis en tomate de árbol. Duncan 5%.	52

Tabla 15. Efecto de los tratamientos en la severidad en tallos de antracnosis en tomate de árbol. Duncan 5%.....	53
Tabla 16. Diferencia de medias (incidencia de antracnosis en hojas por repeticiones). Duncan 5%	54
Tabla 17. Diferencia de medias (severidad de antracnosis en hojas por repeticiones). Duncan 5%	56
Tabla 18. Diferencia de medias de antracnosis en tallos por repeticiones. Duncan 5%	57
Tabla 19. Diferencia de medias (severidad de antracnosis en hojas por repeticiones). Duncan 5%	58

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Ubicación de la Unidad Educativa Agronómico salesiano en el catón Paute	10
Figura 2. Planta de tomate de árbol.....	11
Figura 3. Planta de <i>Thymus vulgaris</i>	16
Figura 4. Conidios de <i>Colletotrichum acutatum</i>	22
Figura 5. Estructura química de p-cimeno, timol y carvacrol.....	26
Figura 6. Lote seleccionado para la aplicación de tratamientos	28
Figura 7. Tabla climática // datos históricos del tiempo paute.....	28
Figura 8. Hojas de tomate de árbol (<i>Solanum betaceum</i>) sin síntomas aparentes de antracnosis. 30	
Figura 9. Aceite esencial de tomillo en presentación de 50 ml. FUENTE: El autor	30
Figura 10. Aplicación de tratamientos mediante aspersión manual hasta el recubrimiento total de las hojas.....	32
Figura 11. Etiquetado de las plantas por tratamiento y repetición.....	33
Figura 12. Distribución de los tratamientos en bloques.....	34
Figura 13. Muestreo para evaluación en el lote	35
Figura 14. Niveles de severidad de enfermedades fúngicas en hojas.	37
Figura 15 Ilustraciones que representan diferentes niveles de severidad de antracnosis en tallos.	38
Figura 16. Concentración de AV vs concentración de AET para cada tratamiento	41
Figura 17. Test de Shapiro-Wilks para las observaciones semanales de incidencia en hojas	42
Figura 18. Test de Shapiro-Wilks para las observaciones semanales de severidad en hojas	43
Figura 19. Test de Shapiro-Wilks para las observaciones semanales de incidencia en tallos	44

Figura 20. Test de Shapiro-Wilks para las observaciones semanales de severidad en tallos	45
Figura 21. Gráfico de barras del porcentaje de incidencia de antracnosis en hojas por tratamiento.	49
Figura 22. Gráfico de barras del porcentaje de severidad de antracnosis en hojas por tratamiento.	51
Figura 23. Gráfico de barras del porcentaje de incidencia de antracnosis en tallos por tratamiento.	52
Figura 24. Gráfico de barras del porcentaje de severidad de antracnosis en tallos por tratamiento.	54
Figura 25. Gráfico de barras de la incidencia de antracnosis en hojas por repeticiones.....	55
Figura 26. Gráfico de barras (incidencia de antracnosis por bloques).....	56
Figura 27. Gráfico de barras de la incidencia de antracnosis en tallos por repeticiones.	57
Figura 28. Gráfico de barras de la severidad de antracnosis en tallos por repeticiones.....	58

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 2. Encuesta sobre diagnóstico de Antracnosis y estado de los cultivos de tomate de árbol	69
Anexo 3. Respuesta a la encuesta sobre antracnosis y estado del cultivo por parte del técnico..	70
Anexo 4. Ficha técnica del AET, proporcionada por la compañía ISABRUBOTANIK S.A.	71
Anexo 5. Tabla de recolección de datos	72

CAPITULO 1

1.1 INTRODUCCIÓN

El cultivo de tomate de árbol (*Solanum betaceum*), es considerado como una de las principales actividades agrícolas en la sierra ecuatoriana, misma que se ha visto afectada por una gran cantidad de plagas y enfermedades, en su mayoría causadas por hongos, dichas enfermedades han sido una de las principales causantes de pérdidas significativas del cultivo, y como consecuencia el abandono de huertos por parte de los fruticultores (Maita 2011).

En el Ecuador según INEC & MAG (2019), se cultivaba una superficie de 5692 ha de cultivos de tomate de árbol, en el año 2010, superficie que fue decreciendo progresivamente hasta llegar a 3443 ha en el año 2018.

Existen diversos microorganismos reportados como agentes causales de enfermedades en el tomate de árbol, siendo los más destacados los de los géneros: *Colletotrichum* sp., *Phytophthora* sp., *Alternaria* sp., *Sclerotinia* sp., entre otros, además de plagas, virus y nemátodos (Hernández, Hoyos, y Cardona 2013; Tamayo 2001).

La antracnosis es una de las principales enfermedades de importancia económica que afectan a cultivos de tomate de árbol en el Ecuador, ya que es capaz de ocasionar lesiones iniciales de color negro, las mismas que pueden llegar a cubrir toda superficie, tanto de la planta como del fruto, provocando pérdidas significativas en la producción. (Garzón 2015; Latorre, Lillio, y Rioja 2005).

Los autores (Alzate et al. 2009; Freeman, Shabi, y Katan 1998; Jeffries et al. 1990) señalan que uno de los principales causantes de la enfermedad de antracnosis en el fruto de cultivos de tomate de árbol es el hongo filamentoso fitopatógeno (*Colletotrichum acutatum* S).

El género *Colletotrichum* cuenta con un extenso número de especies, las cuales han sido consideradas a lo largo del tiempo como una de las especies que lideran el grupo de hongos patógenos en plantas y se presentan tanto en zonas templadas como tropicales (Contreras, 2006; Jeffries et al., 1990).

Las plantas aromáticas presentan un importante potencial, que puede ser aprovechado por el hombre en diversas áreas, el cual se deriva de la concentración de ciertas sustancias en sus diferentes tejidos y órganos, producto de su metabolismo secundario (Corrales et al., 2012).

Los aceites esenciales son sustancias volátiles sintetizadas por plantas aromáticas, y se localizan en diferentes órganos de la planta entre ellos: flores, raíces, tallos, hojas, frutos, etc. Se han descrito alrededor de 3000 aceites esenciales provenientes de diferentes plantas, entre los cuáles unos 300 presentan importancia comercial, debido a su uso en diversas industrias especialmente alimentaria y farmacéutica (Márquez, 2014).

El tomillo (*Thymus vulgaris* L.) es una planta distribuida en diferentes áreas del mediterráneo y Asia. Esta planta es perenne aromática y rica en aceite esencial, cuyos componentes principales son el timol y el carvacrol (Prestes et al., 2008).

Los AE obtenidos de las especies *Thymus* y el timol (componente mayoritario del AET), han sido reconocidas por diversos autores, por su actividad antibacteriana y antifúngica, por lo cual han sido empleados en la preparación de diversos agentes antimicrobianos de uso doméstico (Winward et al., 2008).

El uso de AE como método de control de enfermedades tanto en cosecha como postcosecha, se presenta como un método muy atractivo, debido a que han sido considerados seguros tanto para el medio ambiente, como para la salud humana (Cameroni, 2010).

La presente investigación se basa en evaluar la capacidad antifúngica del aceite esencial de tomillo, partiendo de resultados de estudios realizados a nivel de laboratorio en los cuales se ha demostrado la eficacia del AET en contra de diversos microorganismos, entre ellos, (*Colletotrichum acutatum* S.). Y de esta manera ofrecer alternativas más inocuas para el control de enfermedades, como la antracnosis. Además, se busca dar continuidad a estudios realizados a nivel de laboratorio, los cuales han sido exitosos en este ámbito.

1.2 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Uno de los principales frutales en el Ecuador es el tomate de árbol (*Solanum betaceum*), ya que posee condiciones ideales para su cultivo, pero uno de los factores negativos para el cultivo de esta planta en la provincia del Azuay, ha sido su alta susceptibilidad a enfermedades y plagas, las cuales han tenido un impacto económico y social significativo, principalmente en los cantones Paute, Guachapala, El Pan y Sevilla de Oro que poseen condiciones óptimas tanto en su suelo como en su clima para dicho cultivo (Maita, 2011).

La enfermedad antracnosis, causada por (*Colletotrichum acutatum*), es uno de los principales limitantes en la producción de este cultivo, la misma que no cuenta con un método adecuado para su control y/o prevención (Cáceres y Gualpa 2009).

La antracnosis, además representa un 45% de costos totales en la producción, derivando como una de las principales consecuencias el abandono del cultivo, a partir del segundo año de su producción, ya que se obtienen rendimientos relativamente bajos, sin contar con la inminente evolución de la gravedad de la enfermedad a medida que pasa el tiempo (Tamayo 2001).

En cifras publicadas por el INEC (2010), la provincia del Azuay, en el año 2005 cultivaba 1800 ha, mientras que en el año 2007 esta cantidad fue disminuyendo progresivamente

hasta llegar a las 591 ha, este decrecimiento del área se debe principalmente al ataque de la enfermedad antracnosis (*Colletotrichum acutatum* S.).

En el Ecuador según cifras de Sistema único de información Ambiental (SUIA 2012) el consumo de agroquímicos en cultivos, para el control de enfermedades, está estimado en 3.13 toneladas por cada mil hectáreas, en el año 2002, cifra que incrementó a 4.82 toneladas por cada mil hectáreas, en el año 2012.

Estas cifras que resultan alarmantes ya que los químicos todavía autorizados han creado fenómenos de resistencia en los patógenos contra los que se utilizan, lo que hace aún más necesario encontrar alternativas para conseguir un control efectivo de las podredumbres (Sánchez et al. 2010).

1.3 ANTECEDENTES

En los últimos años los aceites esenciales han sido considerados, como una alternativa bastante efectiva, en el control de plagas en cultivos, esta consideración es gracias a su reconocida capacidad antimicrobiana, demostrada en diversos estudios in vitro. (Rojas et al. 2014).

La investigación de alternativas de control de hongos fitopatógenos, basadas en productos naturales ha crecido paulatinamente durante los últimos años, este interés se ha despertado, debido a la resistencia creada por dichos microorganismos a fungicidas sintéticos utilizados convencionalmente, además de la dificultad que representa el control de estos fitopatógenos (Barrera y García 2008).

Ecuador cuenta con aproximadamente 500 especies de plantas de uso medicinal, de las cuales 288, son estimadas como especies de uso frecuente, y a su vez, 125 especies representan un uso de tipo comercial (Velasquí, 2013).

Diversas investigaciones realizadas en todo el mundo atribuyen propiedades fungicidas, bactericidas, etc., a los aceites esenciales.

En Colombia los autores Alzate et al. (2009) evaluaron tanto la fitotoxicidad como la capacidad antifúngica del aceite esencial de tomillo y limoncillo, en contra del hongo *Colletotrichum acutatum*, causante de la enfermedad de antracnosis, en dicho estudio se sometió a plantas de tomate de árbol a una aspersión foliar completa de ambos aceites esenciales, durante un periodo de dos meses en intervalos de dos días, obteniendo resultados positivos en cuanto a la toxicidad de la planta ya que no hubo ningún síntoma aparente de marchitamiento, deterioro, o influencia en el desarrollo de las plantas. Por su parte, la actividad antifúngica se determinó mediante tres evaluaciones: “Germinación de las esporas de *C. acutatum*”, “Inhibición de la esporulación de *C. acutatum*” e “Inhibición del crecimiento micelial de *C. acutatum* con los AE y sus componentes mayoritarios”. Los resultados expresan, que el timol y el citral inhiben el crecimiento micelial completamente durante once días de incubación, a concentraciones de 125 y 300 mg/L, respectivamente. Por su parte, la reproducción de esporas se evita un 100%, con el AE de limoncillo (350 y 400 mg/L), timol (100 y 125 mg/L), y citral (250 y 300 mg/L), después de doce horas de aplicación. Adicionalmente, el timol (125 mg/L) y el citral (300 mg/L), inhiben completamente la esporulación y el AE de tomillo (350 mg/L), la permite en baja extensión.

Barrera & García (2008) investigaron la actividad antifúngica de diferentes AE y sus compuestos sobre el crecimiento de *Fusarium* sp. aislado de papaya (*Carica papaya*).

Nueve AE de diferentes especies fueron evaluados, entre ellos: epazote, hierbabuena, ruda, tomillo, canela, clavo, ajo, limón mexicano y eucaliptus. El efecto antifúngico se investigó mediante bioensayos de inhibición del crecimiento micelial, arrojando resultados más favorables para el aceite esencial de la especie de tomillo (*Thymus vulgaris*), el cuál presentó una total

inhibición a 200, 250 y 300 µg/ml. Por su parte los AE de canela (*Cinamomum zaylanicum*), clavo (*Syzygium aromaticum*) y epazote (*Teloxys ambrosoides*), mostraron una inhibición del crecimiento micelial dependiente de la dosis aplicada, incrementándola de 100 a 300 µg/ml.

Peña et al., (2019) realizaron un estudio para el Control de *Alternaria alternata* y *Colletotrichum gloeosporioides*, aislados de mango mediante el uso de envases activos de aceite de tomillo, el objetivo de este estudio fue desarrollar envases activos antifúngicos a partir de aceite de tomillo micro encapsulado en almidón/fructanos de agave para controlar hongos fitopatógenos que disminuyen la calidad de mango. La evaluación in vitro del efecto antifúngico del aceite esencial de tomillo se realizó mediante la técnica de difusión en discos de papel filtro, posteriormente procedieron a analizar la influencia del aceite en la inhibición del crecimiento micelial de los fitopatógenos de estudio. Realizaron la encapsulación del aceite de tomillo con almidón y fructanos de agave. Para la elaboración de los envases activos se cortaron rectángulos de nylon de 4x8 cm y se cosieron a máquina para formar sobres de 4x4 cm. Se incorporaron diferentes concentraciones (tratamientos) de las microcápsulas activas dentro de los sachet. Los sachet con las microcápsulas se pegaron en la tapa de la caja Petri. Se midió el efecto de inhibición de crecimiento micelial en contra de los fitopatógenos de estudio. Las cajas se almacenaron en cámara de refrigeración con iluminación constante. En el método de difusión de discos de papel filtro se obtuvo un 100% de inhibición del crecimiento micelial en contra de los fitopatógenos, *Alternaria alternata* y *Colletotrichum gloeosporioides*. Se obtuvieron microcápsulas de aceite con una concentración de timol de 73 ± 15 mg/gr. Finalmente, los sachet inhibieron en un 100 % el crecimiento micelial de ambos fitopatógenos.

1.4 JUSTIFICACIÓN

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS, 2007), se estima que en el territorio Ecuatoriano existen 2.437 almacenes agroquímicos, los cuáles en su mayoría, especialmente los más pequeños, no cuentan con el personal capacitado para el asesoramiento de los consumidores, provocando el uso inadecuado e indiscriminado de estos productos. Que a su vez derivan intoxicaciones, de tal manera que, en las últimas décadas, la tasa de intoxicación aguda incrementó de 3.54 x 100.000 habitantes en el año 1990, a 15.28 x 100.000 habitantes en el año 2004.

Por otro lado, la presencia de residuos tóxicos, la contaminación ambiental, resistencia de organismos patógenos son unos de los diversos inconvenientes que se presentan con el uso de los plaguicidas sintéticos. Por esta razón, desde la década de los noventa se ha investigado, sustancias naturales de origen vegetal como posibles plaguicidas, entre ellos los más destacados han sido los aceites esenciales y las piretrinas ya que presentan gran efectividad y mínimos efectos adversos

Las plantas son consideradas como las fuentes más importantes de producción de compuestos químicos y durante varios años, las mismas han desarrollado compuestos capaces de contrarrestar el ataque de diversos insectos y microorganismos

El uso de plaguicidas de origen sintético provoca consecuencias como: intoxicación por parte de los usuarios y consumidores de alimentos con residuos, destrucción de suelos y hábitats, contaminación de fuentes acuíferas, aparición de enfermedades humanas y ambientales, aparición de plagas resistentes, etc. Aun así, dicho consumo ha superado al de plaguicidas botánicos, debido principalmente a la falta de información y alternativas viables para los usuarios (Pérez 2012).

Es por eso, que la presente investigación busca aplicar productos naturales, como fungicidas, basándose en estudios previos que no se han aplicado en cultivos in vivo. Para de esa manera poder establecer las diferencias que se rigen entre ambos tipos de aplicaciones, y factores que podrían incidir en el éxito de su aplicación

1.5 OBJETIVOS

1.5.1 Objetivo general

- Evaluar tres concentraciones del aceite esencial de Tomillo contra el hongo (*Colletotrichum acutatum*) mediante un estudio in vivo para determinar su capacidad antifúngica en cultivos de tomate de árbol (*Solanum betaceum*).

1.5.2 Objetivos específicos

- Determinar tres concentraciones de aceite esencial de Tomillo basadas en estudios in vitro para aplicar mediante aspersión manual en el cultivo de tomate de árbol.
- Registrar en una base de datos la incidencia y severidad de los cultivos de tomate de árbol, antes, durante y después, de los tratamientos para monitorear el desarrollo de antracnosis.
- Comparar las características obtenidas en la base de datos mediante un modelo estadístico para determinar la capacidad antifúngica del aceite esencial de Tomillo.

1.6 HIPÓTESIS

La aplicación de aceite esencial de tomillo en cultivos tomate de árbol inhibe el desarrollo del hongo *Colletotrichum acutatum*, entonces evita la aparición de síntomas de la enfermedad antracnosis en la planta.

1.7 DELIMITACIÓN GEOGRÁFICA DEL ESTUDIO

El espacio considerado para llevar a cabo este estudio fueron los cultivos de tomate de árbol pertenecientes a la Unidad Educativa Agronómico Salesiano Paute, campus Uzhupud ubicado en el cantón Paute, en la Provincia del Azuay, en la parroquia de Chicán.

La Unidad Educativa Agronómico Salesiano Paute, se encuentra a una altura aproximada de 2450 m.s.n.m. En las coordenadas $78^{\circ} 45'' 996'$ W $2^{\circ} 49'' 941'$ S norte; $78^{\circ} 46'' 01710'$ W $2^{\circ} 50'' 131'$ S sur; $78^{\circ} 45'' 951'$ W $2^{\circ} 50'' 040'$ S este; $78^{\circ} 46'' 05010'$ W $2^{\circ} 50'' 3915'$ S oeste (véase figura 1).

La parroquia Chicán, se ubica en la zona oriental de la provincia del Azuay, al sureste del cantón Paute, limita al Norte con la Parroquia urbana Paute y el cantón Guachapala; al Sur con el cantón Gualaceo; al Este con los cantones Guachapala y Gualaceo; al Oeste con las parroquias de Paute y El cabo con la presencia del río Paute como límite natural de los territorios parroquiales mencionados (Paucar et al., 2015, p 11).



Figura 1. Ubicación de la Unidad Educativa Agronómico salesiano en el catón Paute (Fuente: Google Earth, 2019)

CAPITULO 2

2.1 MARCO DE REFERENCIA

2.1.1 Especies vegetales

2.1.1.1 Tomate de árbol (*Solanum Betaceum*)

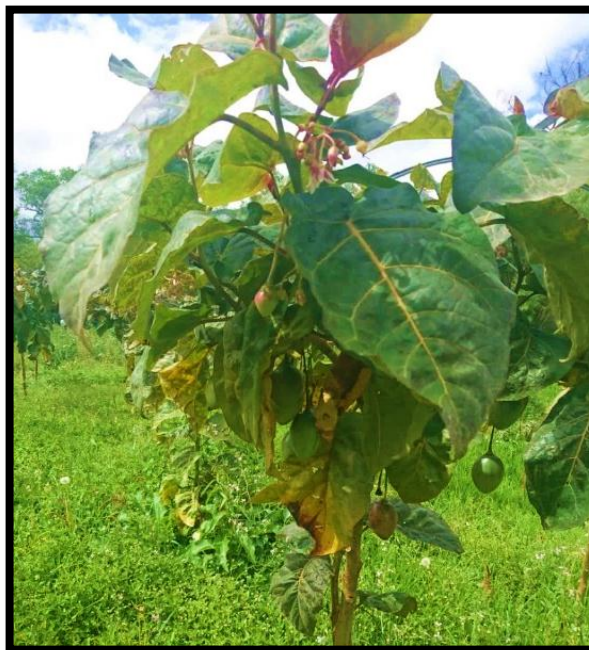


Figura 2. Planta de tomate de árbol (Fuente: El autor)

El tomate de árbol es una planta cuyo origen se registra en los Andes Peruanos, y se encuentra dispersa en diversos países de la región andina tales como: Bolivia, Brasil, Chile, Colombia y Ecuador (Villegas, 2009).

Esta planta es considerada como un cultivo endémico ecuatoriano, debido a la existencia de variedades propias, que fueron adaptadas por pobladores nativos y posteriormente por agricultores. En el país se producen tres variedades de tomate de árbol, aunque comercialmente no se destaca diferencia alguna entre ellas, pero comúnmente son reconocidas por características tales como su forma y color del fruto (Flores, 2007).

A nivel nacional, el tomate de árbol es un producto ampliamente aceptado por consumidores locales y Regionales, particularmente en la región sierra. Además, es un producto

muy rentable, ya que se encuentra en el mercado a lo largo de todo el año y su precio es bastante accesible. (Aviles 2012).

- **Nombre científico y nombres comunes**

El nombre del tomate de árbol (*Solanum betaceum*), fue clasificado por Cavanilles en el año 1799, posteriormente en el año 1845 Sendtner lo transfirió al género *Cyphomandra*, donde permaneció hasta el año 1995, cuando Bohs lo volvió a integrar al género *Solanum*.

Dicha reintegración al género *Solanum*, fue justificada con diversos estudios moleculares (Olmstead y Palmer, 1992, como se citó en Albornoz, 1995).

Comúnmente esta planta es conocida con un sin número de nombres en diversas regiones, pero de su nombre comercial generalizado en el mercado mundial fue denominado como "tamarillo", nombre que tuvo origen en Nueva Zelanda en el año 1970 aproximadamente (Flores 2007).

Sin embargo, de manera no comercial es conocido también como: tomate de árbol, tomatillo, sachá tomate, tomate andino, tomate serrano, tomate de yuca o chilito (Huayana y Yavarí 2017).

- **Clasificación taxonómica**

Bohs (1995, como se citó en (Perugachi y Yajaira 2012), incorporó el género *Cyphomandra* en el género *Solanum*, quedando la clasificación según se describe en la tabla 1:

Tabla 1. *Clasificación taxonómica de Solanum betaceum* Cav.

Elaborado por: El Autor (Fuente: Perugachi & Yajaira, 2012)

Reino:	Vegetal
División:	Fanerógamas
Subdivisión:	Angiospermas
Clase:	Dicotiledóneas
Subclase:	Metaclamideas
Orden:	Tubiflorales
Familia:	Solanaceae
Género:	<i>Solanum</i> (Cyphomandra)
Especie:	<i>Solanum betaceum</i> Cav. (Cyphomandra betacea Sendt)

- **Descripción botánica**

El tomate de árbol (*Solanum betaceum*), se describe con una especie arbórea, que mide 3-4 m de altura, cuyo tronco es frágil, torcido, corto y presenta una coloración grisácea. Cuenta con un follaje perenne, a excepción de climas demasiado fríos, en donde pierde gran cantidad del mismo, el color de las hojas del tomate de árbol es verde oscuro y son algo ásperas al tacto (Alvarado et al. 2003).

Las hojas tienen una especie de forma acorazonada en la base, y en el ápice ovalada con punta. Su tamaño oscila entre los 10-30 cm de largo y de 4-12 cm de ancho y tienen nervaduras centrales prominentes.

Las flores son pequeñas y presentan una coloración blanco-rosácea y están dispuestas en racimos auxiliares o terminales, cuentan con cinco pétalos unidos en la base e igual número de estambres, por lo general son autógamas, aunque también existe la posibilidad de polinización cruzada

Sánchez (1996, como se citó en Vega, 2013) describió que los frutos de tomate de árbol se presentan solos o en racimos de hasta doce unidades y tienen una forma ovoide más o menos alargada, el tamaño de los mismos oscila entre los 5-10 cm de largo y 3.8-5 cm de largo. La pulpa del fruto varía en un amplio rango de colores que pueden ir desde anaranjado claro a oscuro, y también color morado, su textura es agradable al paladar y muy firme, por el contrario de su corteza que es amarga y desagradable.

Su propagación es mediante semillas tallos y raíces y da frutos en un rango de 8 a 10 años (Reyes y Sanabria 1993).

- **Usos y propiedades**

Los frutos frescos de *Solanum betaceum* han sido reconocidos mediante diversos estudios químicos como fuente de vitaminas B6, C, y E, así mismo cuenta con un importante contenido de beta-caroteno (precursor de vitamina A) y hierro, además también posee altos contenidos de potasio, magnesio, fósforo, así como de pectinas y carotenoides. Reciben especial atención como fuentes alternativas de esteroides de interés farmacéutico, ya que se han reportado en su composición la existencia de dos alcaloides esteroideos del tipo de los espirosolanos, solasodina y tomatideno (Alvarado et al, 2003).

En cuanto a su uso el fruto del *Solanum betaceum* no es limitado únicamente a su consumo como fruta fresca, sino que también lo encontramos en forma de alimentos procesados tales como: pulpa, helados, productos en almíbar, néctares, bocadillos, bebidas fermentadas, etc.

Medicinalmente, es utilizado en la frutoterapia, para tratar afecciones como: refriados, dolor de garganta, etc., así como también es contribuyente a resolver problemas hepáticos (Alvarez et al. 2009)

- **Enfermedades y Plagas**

El tomate de árbol es propenso a diversas plagas y enfermedades (tabla 2), causadas principalmente por hongos, virus y nemátodos, los cuales afectan a diferentes órganos de la planta (León et al. 2004).

Tabla 2. Principales plagas de y enfermedades *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 amarillento (TaMV)</i>
Nematodos	<i>Meloidogyne incognita</i>
Pulgones	<i>Aphis sp.</i>
Chinche foliado	<i>Leptoglossus zonatus</i>
Gusanos trozadores	<i>Agrotis sp.</i>

Fuente: (Arévalo, 2017)

2.1.1.2 Tomillo (*Thymus Vulgaris*)



Figura 3. Planta de *Thymus vulgaris* (Fuente: Prestes et al., 2008).

Es una planta aromática, de amplia distribución, antiguamente usada en procesos de momificación (Chambi y Quiroz, 2017).

El hábitat ideal, para el desarrollo de esta especie se encuentra en suelos secos y soleados, y con menor frecuencia, en otros tipos de suelos como: arcillosos y silíceos.

En cuanto al clima, los más óptimos para su crecimiento, son el templado y el subtropical (Ortega 2018)

El origen del tomillo es registrado en el occidente de Asia, el centro de Europa, y en la parte norte de África, aunque se puede cultivar en diferentes regiones del planeta, preferentemente a una altitud entre 0 y 2.000 m.s.n.m. (Inlago y Zambrano 2014).

- **Nombres Comunes y nombre científico**

El término *Thymus* se deriva de las raíces griegas *Thym*, cuyo significado hace referencia a la aromaticidad y el término, *Vulgaris* que se refiere a la frecuencia de este vegetal (Inlago y Zambrano 2014).

Sus nombres comunes más populares son: Tomillo, Tremonillo, Estremoncillo, etc. (Lagos 2012).

- **Clasificación Taxonómica**

En la siguiente tabla se indica la clasificación taxonómica para *Thymus Vulgaris* según Estrada (2010, como se citó en Ortega 2018).

Tabla 3. *Clasificación taxonómica del tomillo.*

Reino:	<i>Plantae</i>
División:	<i>Magnoliophyta</i>
Clase:	<i>Magnoliopsida</i>
Orden:	<i>Lamiales</i>
Familia:	<i>Lamiaceae</i>
Genero:	<i>Thymus</i>
Especie:	<i>Vulgaris</i>

Elaborado por: El Autor (Fuente: Ortega, 2018)

- **Descripción Botánica**

El tomillo es un arbusto enano, leñoso y muy aromático, que puede llegar a medir de 15 a 30cm, de altura. Florece en primavera a partir del mes de marzo.

Cuenta con un sistema de raíces, bastante profundo, el cual, le aporta la propiedad de tolerar de mejor manera periodos calurosos y secos, además de que aporta una estabilidad en el suelo.

Consta de tallos leñosos, muy ramificados con ramas que poseen es su parte externa de una pequeña corteza (Burri y Piarpuezán, 2013).

Sus hojas son abundantes y poseen un tamaño que oscila entre los 4 a 10 mm de largo, se caracterizan por tener un peciolo corto, ser lanceoladas, obtusas y agudas (Chambi y Quiroz 2017).

- **Usos**

El tomillo registra un sin número de usos en diferentes áreas, entre ellas, se registra que posee propiedades medicinales, debido a su actividad antiespasmódica y expectorante, y también es usado para mitigar síntomas causados por la gripe, ya que actúa como relajante sobre el músculo liso bronquial, atribuyéndose así, su acción antitusiva

Es también atribuida a esta especie, una actividad antiséptica, ya que se ha demostrado su acción mediante infecciones microbianas, impidiendo que las mismas se desarrollen.

La esencia de tomillo presenta, así mismo un amplio rango de utilidades siendo una de las más destacadas, su actividad antioxidante, debido a compuestos como el timol y el carvacrol y otros componentes presentes en menor cantidad como algunos flavonoides y polifenoles (Inlago y Zambrano 2014).

El tomillo, es también utilizado en el ámbito culinario, ya que conserva los alimentos en buen estado debido a sus capacidades antioxidantes y antimicrobianas (Lagos 2012).

- **Composición Química**

Según Alonso (2008, como se citó en Ortega, 2018), en estudios realizados para determinar la composición química, se registra la presencia de flavonoides, flavonas metoxilas, flavonoles, heterósidos de leutonina y taninos.

En la siguiente tabla se describe la composición química del tomillo en 100 g. de material vegetal seco (Marqués 2015).

Tabla 4. *Composición química de las hojas de tomillo.*

COMPUESTO	CANTIDAD (g)
Humedad%	6.70
Cenizas%	9.21
Proteína%	10.25
Fibra%	17.33
Carbohidratos%	57.26
Grasa%	5.20
Energía kcal/100g	315.76

Fuente: (Marqués 2015)

2.1.2 Antracnosis

2.1.2.1 Generalidades

Enfermedad provocada, por hongos del género *Colletotrichum*, que afecta frutos, hojas y tallos de la planta, generalmente se caracteriza por la aparición de manchas o lesiones oscuras, de tamaños pequeños o grandes, ligeramente sumidas y con un contorno ligeramente levantado (Arévalo 2017).

Según los criterios de Santillán y Neira (1998), la incidencia y severidad de esta enfermedad aumenta significativamente, por factores como: lluvias continuas y humedad relativamente alta, de igual forma la enfermedad se intensifica en zonas entre 2000 y 2200 m s.n.m., citado por (Gavilanes 2009).

- **Síntomas**

El agente causal de la enfermedad ataca en diversas partes de la planta, siendo más notorios los síntomas en frutos (Tamayo 2001).

Esta enfermedad se caracteriza por causar lesiones oscuras, hundidas y bien definidas, las cuales se encuentran señaladas por una o más aureolas concéntricas, que posteriormente secan las zonas afectadas, dando a las mismas una apariencia de quemadura. (Revelo 2014).

2.1.2.2 Manejo de la enfermedad

Existen diversas alternativas de control de esta enfermedad, las cuales, en su mayoría, se han basado en métodos químicos, trayendo consigo consecuencias tales como: desequilibrio ecológico y contaminación ambiental (Pérez 2008; Revelo 2014)

- **Control Cultural**

Empieza por seleccionar una zona de condiciones óptimas para el cultivo, seguida de una amplitud de siembra que permita una correcta aireación del cultivo. Así mismo se basa en la incorporación de materia orgánica, realizar podas de formación, podas sanitarias cada 30 días, control de malezas, no en su totalidad, pero si mantenerlas bajas para evitar humedad, y por consecuencia el desarrollo de la enfermedad (Perugachi y Yajaira 2012).

- **Control Químico**

Para controlar la antracnosis los productos químicos más utilizados en el mercado son los fungicidas cúpricos, como el hidróxido de cobre y oxiclورو de cobre, los cuáles se aplican de forma preventiva, antes de la floración y quince días previos a la germinación de la semilla. Se realizan aplicaciones semanales, mediante aspersión y de ser preferencia gotas fina para mejor adsorción del mismo ZACATEPEC (2002, como se citó en Trujillo 2014).

2.1.3 *Colletotrichum*

2.1.3.1 Generalidades

Es uno de los géneros, mundialmente reconocidos como patógenos, especialmente en regiones tropicales y subtropicales

C.gloeosporoides, *C. acutatum* y *C. orbiculare*, son consideradas como especies principales dentro del género *Colletotrichum*

Las especies de este género tienen la capacidad de producir enzimas capaces de degradar los componentes estructurales de los tejidos de la planta, y algunas son capaces de provocar muerte celular, dentro de dichas enzimas se puede diferenciar generalmente dos tipos, unas que degradan carbohidratos, y por ende disuelven la pared celular, y otras que dan lugar a una hidrólisis de las cutículas (Bailey et al. 2009).

Baquero & Castro (2002) manifestaron los siguiente:

Las formas de *Colletotrichum* pueden ser determinadas por un sin número de patrones naturales, entre los que figuran desde saprófitos hasta parásitos especializados con un amplio rango de hospederos.

Las conidias se producen en masas mucilaginosas de color rosado bastante conspicuas y típicamente hundidas; el patógeno forma lesiones necróticas en tallos, hojas, frutos (p. 22)

Las especies de *Colletotrichum* son extremadamente variables, esto se ve reflejado en rasgos como: la morfología de la colonia, forma de los conidios, forma y presencia de vellosidades, pigmentación, patogenicidad, sensibilidad a fungicidas, etc. De igual forma el ambiente es un factor condicional para dichos rasgos, por lo cual existe una compleja confiabilidad en la diferenciación entre especies de *Colletotrichum* (Maita, 2011, p. 12).

- **Clasificación Taxonómica**

Según los autores (Bustamante 2015; Cannon et al. 2012; Guamán 2018) la taxonomía para el género *Colletotrichum* está establecida de la siguiente forma:

Tabla 5. *Taxonomía del género Colletotrichum*

Reino	Fungi
Filum	Ascomycota
Subfilum	Pezizomycota
Clase	Sordariomycetes
Familia	Glomerellaceae
Género	Colletotrichum

FUENTE: (Guamán 2018)

2.1.3.2. *Colletotrichum acutatum*

Especie descubierta en el año 1965, por Simmonds, al estudiar la causa de pudrición del fruto de la papaya, esta especie se caracteriza por sus conidias elipsoidales (ver figura) , fusiformes y producidas en masas de coloración naranja brillante, o nacidas directamente en el micelio, dicha característica la hace diferenciarse de otras especies de *Colletotrichum* (Maita 2011).

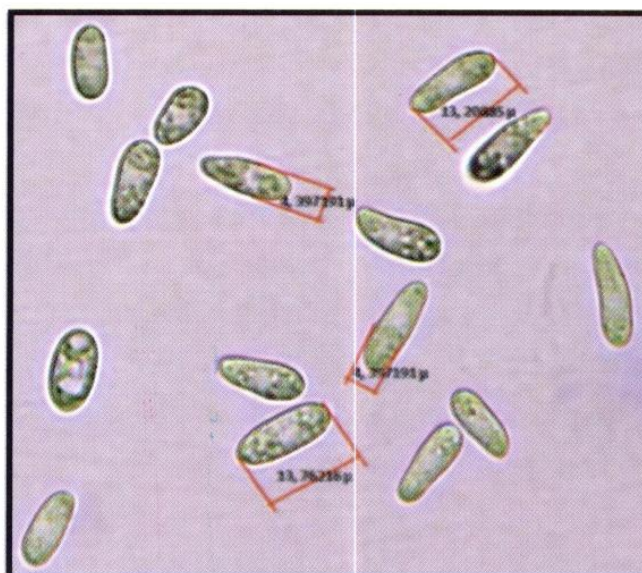


Figura 4. Conidios de *Colletotrichum acutatum*.

(FUENTE: Maita, 2011)

C. acutatum ha sido descrito como agente causal de la antracnosis, mediante técnicas moleculares y gracias a los avances en estudios de taxonomía y epidemiología (Freeman et al. 1998; Quirós, Peres, y Arauz 2013).

Este hongo tiene la capacidad de afectar al fruto en cualquier etapa que se encuentre el mismo, inclusive hasta que alcanza su estado de madurez de consumo, el ataque puede ocurrir con el mismo grado de severidad (Maita 2011).

Las colonias que produce *C. acutatum*, presentan una coloración inicial blanca y posteriormente se torna de roja a naranja, debido a sus masas conidiales. Esta especie presenta características sumamente similares a la especie *C. gloeosporioides*, lo cual ha hecho sumamente difícil la diferenciación entre ambas especies, sin embargo características como tasa de crecimiento y resistencia al Bemomyl, han sido útiles para distinguir ambas especies (Delgado 2013).

C. acutatum es un complejo muy diverso el cual, según Damm et al. (2012) basándose en la morfología de un total de 331 cepas e información de la secuenciación del ADN, 21 de las 31 especies reconocidas hasta la actualidad, no habían sido reconocidas como *C. acutatum* si no que se encontraban dentro del complejo de *C. gloeosporioides*.

Este hongo se encuentra en la naturaleza en su estado asexual y es considerado como uno de los principales fitopatógenos que atacan con mayor éxito a los vegetales, debido a que su ataque fitoquímico es muy efectivo, ya que pasa prácticamente desapercibido por las plantas, y las mismas activan sus mecanismos físicos y químicos de defensa demasiado tarde, es decir cuando la infección del hongo se ha desarrollado considerablemente (Wharton y Diéguez, 2004).

2.1.4. Aceites esenciales

2.1.4.1 Definición

Compuestos obtenidos a partir de vegetales, de olor intenso, muy volátiles y livianos o poco densos. Son una mezcla de sustancias químicas, no grasas, por lo que no se enrancian, además son insolubles en agua, y solubles en alcohol, grasas, ceras y aceites vegetales.

Su nombre se deriva del latín “quinta essentia”, que significa quinto elemento, propuesto por Paracelso, quién tenía la creencia que este era el principio activo de un compuesto médico.

Se define también con el término de aceite esencial a sustancias que son sintetizadas a partir de alquitrán de hulla y a sustancias semisintéticas que se derivan de aceites naturales extraídos de material vegetal (Lagos 2012).

Se registra que existen alrededor de unos 3000 tipos de aceites esenciales, de los cuales 300 de ellos tienen una importancia comercial, especialmente en los mercados de condimentos y fragancias (Burt 2004).

Los aceites esenciales participan en interacciones entre las plantas, inhibiendo o estimulando, el proceso de germinación de otras especies vegetales, además de representar un mecanismo de defensa contra diferentes plagas (Blázquez 2014).

2.1.4.2. Actividad biocontroladora de los AE

Diversas investigaciones con aceites esenciales han llevado a la conclusión que los mismos tienen una actividad biocontroladora debido a su contenido de metabolitos secundarios, los cuales están asociados al control biológico de organismos fitopatógenos, y en numerosos casos se concluye que los mismos son capaces de activar mecanismos de defensas en las plantas, brindando protección preventiva a las mismas (Andrade et al. 2017).

Pérez et al. (2013) asegura que:

El uso de productos naturales se ha estudiado con base a que las plantas poseen un metabolismo secundario, el cual le permite producir compuestos de química diversa.

Estos compuestos (MS), son utilizados por la planta como estrategia de defensa contra condiciones de estrés biótico y abiótico, principalmente cuando están expuestas a un ataque por insectos o microorganismos patógenos. (p. 6)

2.1.4.3 Aceite esencial de tomillo

- **Composición química**

El timol es el compuesto que se encuentra en mayor cantidad en la composición química del aceite esencial de tomillo (70%), seguido del carvacrol (35%) y otros compuestos minoritarios (Ortega 2018).

El carvacrol es un isómero del timol, cambiando únicamente la posición del grupo hidroxilo, su mecanismo de acción es semejante al del timol. Este componente interactúa con la membrana celular disolviéndose en la bicapa fosfolipídica, lo que causa la desestabilización de la misma, aumentando su fluidez y la permeabilidad. La posición orto de su radical hidroxilo le permite actuar como intercambiador de protones, primero se difunde a través de la membrana hacia el citoplasma donde libera su protón, posteriormente vuelve al exterior de la célula transportando y liberando un catión (por ejemplo, ion-potasio), y el carvacrol capta un nuevo catión repitiendo el ciclo, causando agotamiento de ATP, deterioro de procesos vitales y finalmente la muerte de la célula bacteriana. Algunos trabajos reportan que la fuerte acción antimicrobiana del timol y carvacrol se atribuye a la presencia del radical hidroxilo,

debido a que p-cimeno (ver Figura 5), precursor biológico de estos componentes carece de este hidroxilo y presenta menor actividad (López et al. 2016, p. 79).

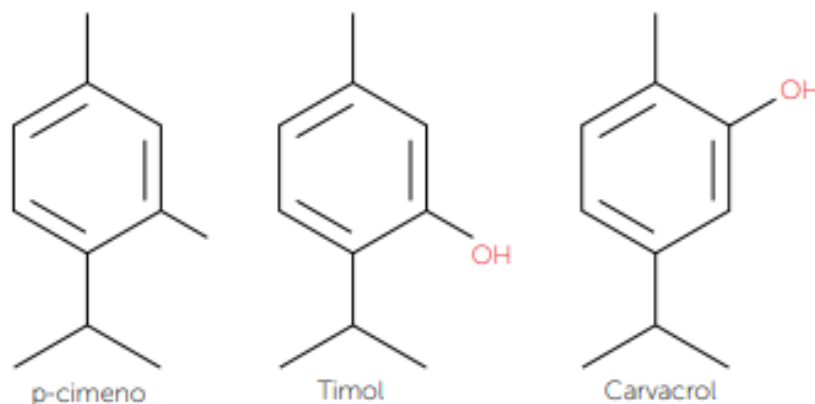


Figura 5. Estructura química de p-cimeno, timol y carvacrol

FUENTE: Chizzola (2013 citado en López et al, 2016)

- **Propiedades**

El timol ha sido reconocido como un efectivo antimicrobiano, capaz de romper la membrana interna de las bacterias, debido a que se adhiere a la misma hidrofóbicamente por puentes de hidrógeno, o cual desestabiliza la membrana y aumenta la permeabilidad, provocando la pérdida de iones de K y ATP intracelular y por ende la muerte se llega a la muerte celular. Por su parte al timol se la ha atribuido la capacidad de inhibir tanto el crecimiento como la germinación de esporas y en bacterias restringe la multiplicación celular

A nivel comercial el ET, es requerido principalmente en la industria farmacéutica, cosmética, agroalimentaria, etc. (López et al. 2016).

El mecanismo de acción del AET, se atribuye al rompimiento de la membrana celular de hongos y bacterias (Oussalah, Caillet, y Lacroix 2006).

CAPITULO 3

3.1 MATERIALES Y MÉTODOS

3.1.1. Tipo de Investigación

La investigación a realizar fue un diseño experimental puro, basado en los fundamentos de (Franco et al. 2017; Salazar 1998), en el cual se realizaron prácticas para el reconocimiento, monitoreo y control de diferentes enfermedades fúngicas en plantas.

3.1.2. Examinación del área experimental

Se realizó un recorrido por el Colegio Agronómico Técnico Salesiano, con el objetivo de identificar el lote de plantas, que reúna características propias para la investigación, tales como: edad y distancias de siembra constantes.

El lote seleccionado para llevar a cabo la investigación (ver figura 6), estuvo conformado por un grupo de 57 plantas, comprendidas entre 4 y 6 meses de edad, específicamente antes del inicio de su producción, las mismas constaban con una distancia de siembra de 1.80 m

El área experimental donde tuvo lugar la investigación fue en los cultivos pertenecientes a La Unidad Educativa Agronómico Salesiano Paute, la misma se encuentra ubicada en el cantón Paute, en la Provincia del Azuay, a una altura aproximada de 2450 m.s.n.m. y en las coordenadas latitud 2° 49.9' 131" S y longitud 78° 45.99' 951" O.



Figura 6. Lote seleccionado para la aplicación de tratamientos

(FUENTE: El autor)

El cantón Paute cuenta con un clima cálido y templado, siendo la temperatura media anual de 17.3 °C. Sus precipitaciones son significativas, estando presentes incluso en el mes más seco, siendo la precipitación anual de 986mm (CLIMATE-DATA ORG s. f.).

El experimento se llevó a cabo entre julio-octubre, debido a que correspondían a los meses con menores precipitaciones (ver figura 7).

	Enero	Febrero	Marzo	Abril	Mayo	Junio	Julio	Agosto	Septiembre	Octubre	Noviembre	Diciembre
Temperatura media (°C)	17.6	17.8	17.5	17.4	17.5	17.1	16.5	16.6	16.8	17.4	17.8	17.7
Temperatura mín. (°C)	11.4	11.5	11.4	11.4	11.3	10.9	10.5	10.4	10.7	10.9	10.9	11.2
Temperatura máx. (°C)	23.8	24.1	23.7	23.5	23.7	23.3	22.5	22.8	23	24	24.7	24.3
Precipitación (mm)	67	85	113	117	84	91	73	59	69	78	76	74

Figura 7. Tabla climática // datos históricos del tiempo paute

FUENTE: (CLIMATE-DATA ORG, s. f.).

3.1.3. Diagnóstico del cultivo y de la enfermedad

Se procedió a elaborar una encuesta acerca de los síntomas y estado de los cultivos (ver anexo 1), la cual fue dirigida al técnico encargado de las plantaciones y fue basada en fundamentos de (Salazar 1998).

Se realizó un análisis visual del estado general de la plantación, determinando que su estado era bastante bueno, ya que, a pesar de la notoria presencia de antracnosis y basándose en los resultados de las encuestas (ver anexo 2), no se determinó la existencia de otro tipo de plagas tales como insectos u otras enfermedades fúngicas.

3.1.4 Diseño Experimental

Se utilizó un diseño en bloques completamente al azar, se consideran 3 tratamientos, un testigo referencial y un testigo absoluto, se utilizaron tres cultivos de *Solanum betaceum* por tratamiento.

3.1.5. Cualidades de la unidad experimental

Después de determinar el lote e incluyendo el número de plantas que se encontraban en el mismo, además del diseño experimental a utilizar, se prosiguió a determinar las parcelas y los bloques, para la aplicación de los tratamientos.

Un bloque correspondió a una repetición, dando un total de tres repeticiones.

Dentro de cada parcela se encontraba un total de 19 árboles, tomando únicamente como parcela neta tres árboles, los cuáles reunían las características similares como edad, altura, porcentaje de hojas sanas (ver figura 8).



Figura 8. Hojas de tomate de árbol (*Solanum betaceum*) sin síntomas aparentes de antracnosis.

FUENTE: El autor

3.1.6. Determinación de las concentraciones de AET para su aplicación

Para la preparación de los concentrados, se utilizó AET como principio activo (ver figura 9), el mismo fue adquirido de la compañía ISABRUBOTANICK S.A de la ciudad de Ambato., y



Figura 9. Aceite esencial de tomillo en presentación de 50 ml.

FUENTE: El autor

aceite vegetal como diluyente obtenido de los laboratorios Paracelso ubicados en la ciudad de Cuenca.

Para dicho fin se reviso que los componentes químicos presentados en la ficha técnica del AET (ver anexo 3), coincidan con los componentes revisados en la literatura siendo el timol el componente principal.

3.1.6.1 Preparación del AET en diferentes concentraciones

Para la preparación del AET se tomó en cuenta los criterios utilizados por Alzate et al. (2009) en donde se determinó la concentración mínima fungicida (CMF) del AET y la concentración máxima soportada por la planta, sin presentar efectos fitotóxicos.

El AET, a una concentración de 350 mg/ml presenta una inhibición del hongo *Colletotrichum acutatum*, que oscila entre el 80% y 90%. Por cuál se procedió a determinar el porcentaje de concentración según una regla simple de 3.

En la misma investigación se llevó a cabo, el estudio de la fitotoxicidad del AET, donde la máxima concentración utilizada fue de 1000mg/ml.

Para que las concentraciones de los tratamientos tuvieran un rango de variación constante se partió de la concentración mínima, dejando un margen de diferencia del 25% entre tratamientos.

El tratamiento correspondiente al testigo absoluto se basó únicamente en la aplicación de agua, en cuanto al testigo referencial se aplicó únicamente el disolvente del AET, en este caso el AV.

3.1.6.2. Aplicación de los tratamientos a cultivos de tomate de árbol

Los tratamientos se aplicaron, mediante aspersión manual, con la ayuda de un atomizador plástico hasta lograr un cubrimiento total del área foliar y los tallos de las plantas, la frecuencia

de aplicación fué dos veces por semana (ver figura 10), debido a que es posible evidenciar que las marcas de AE, desaparecen una semana después de su aplicación, por lo que se requiere una nueva aplicación. Después de transcurridos dos meses de aplicación, se procedió a disminuir el número de aplicaciones a una vez por semana por otros dos meses consecutivos, repitiendo las aplicaciones únicamente en las semanas de precipitaciones constantes.

Los parámetros de aplicación fueron los mismos para las tres concentraciones de AET y en plantas de iguales características.



Figura 10. Aplicación de tratamientos mediante aspersión manual hasta el recubrimiento total de las hojas.

FUENTE: El autor

3.1.6.3. Repeticiones de los tratamientos

En cada parcela se procedió a etiquetar cada una de las plantas 11 plantas con un código de abreviatura, el cual hacía referencia al tratamiento aplicado, número de repetición y número individual de cada planta. Además, se asignó un color de etiqueta para cada tratamiento (ver figura 11).



Figura 11. Etiquetado de las plantas por tratamiento y repetición

FUENTE: El autor

Un sistema completamente al azar sirvió para designar las parcelas, para este fin se marcaron cuatro etiquetas con una numeración 1-4, que se colocaron en un recipiente y se tomó el orden de las parcelas una a una, en el bloque correspondiente. La distribución de los tratamientos se puede observar en la figura 12.

T1r1	TRr1	T2r1	T3r1	BLOQUE 1
T1r2	T3r2	T2r2	TRr3	BLOQUE 2
TRr3	T2r3	T3r3	T1r3	BLOQUE 3

Figura 12. Distribución de los tratamientos en bloques.

FUENTE: El autor

3.1.6.4 Manejo cultural del cultivo

Se incluyó el manejo cultural dentro del cultivo ya que se consideró oportuno tomar en cuenta aspectos que influyen en las condiciones reales del mismo, y la forma de manejo por parte de la institución. Dentro de ese parámetro se incluyen:

Riego: Al ser plantas de temprana edad, el técnico encargado del cultivo nos indicó que las mismas se riegan cada cuatro semanas debido a la presencia constante de precipitaciones.

Podas: Las podas sanitarias se realizaron cada tres meses, haciendo una poda previa al inicio del experimento.

Control de malezas: Se realizó cada cuatro semanas, el personal encargado de la plantación realizó dicho control de forma manual, haciendo uso de machetes.

Control de Insectos: Debido a que no se presenciaron cantidades de insectos que representen una plaga, dicho control consistió únicamente observar que los mismos no constituyan un problema.

3.1.7 Registro de características específicas de la planta antes durante y después del tratamiento para monitoreo de Antracnosis

3.1.7.1 Variables de estudio

Incidencia: Porcentaje hojas plantas o tallo enfermas

Severidad: Porcentaje de área de tejidos cubierta con síntomas

- **Incidencia y severidad de antracnosis en el lote experimental**

Se realizó con la finalidad de tener una evaluación y monitorear la incidencia y severidad existente en la plantación previa a la aplicación de los tratamientos. Tanto el número de manchas como el porcentaje foliar infectado se muestreó al azar en la plantación. Se tomó 6 sitios de muestreo los cuáles se hacían en forma sistemática, es decir se recorría de lado a lado cada hilera y cada cuatro pasos se tomaba como un sitio de muestreo (ver figura 13)

Se contó el número de manchas en hojas al azar, así como el porcentaje foliar y de tallos infectados. Para este fin solo se tomó en cuenta toda la plantación independientemente si recibían o no los tratamientos.



Figura 13. Muestreo para evaluación en el lote

Fuente: El Autor

- **Incidencia y severidad de antracnosis en la planta**

Se determinaron por observación directa, evaluando la cantidad de tejidos afectados que presenten síntomas de antracnosis, para dicha evaluación se tomaron datos iniciales de las unidades experimentales y posteriormente cada semana, previa a la aplicación de los tratamientos.

Los datos fueron recolectados en tablas donde se indicaba la codificación de cada planta y la semana en que se tomó la evaluación (ver anexo 4).

- ***Incidencia y severidad de antracnosis en las hojas:***

Para evaluar la incidencia de antracnosis en hojas, se procedió a realizar el conteo de hojas totales y las hojas enfermas por planta, seguidamente se estimó el porcentaje de hojas por rama con el empleo de la ecuación 1.

$$I = \frac{HE}{HT} \times 100$$

Donde:

I: Incidencia

HE: Total de hojas enfermas por planta

HT: Número total de hojas por planta

El número acumulado de hojas enfermas para cada planta fue calculado durante las semanas evaluadas.

Para evaluar la severidad se procedió realizar una cuantificación de la severidad de la enfermedad haciendo uso de un diagrama visual (ver figura 14) y una escala diagramática (ver tabla 6)

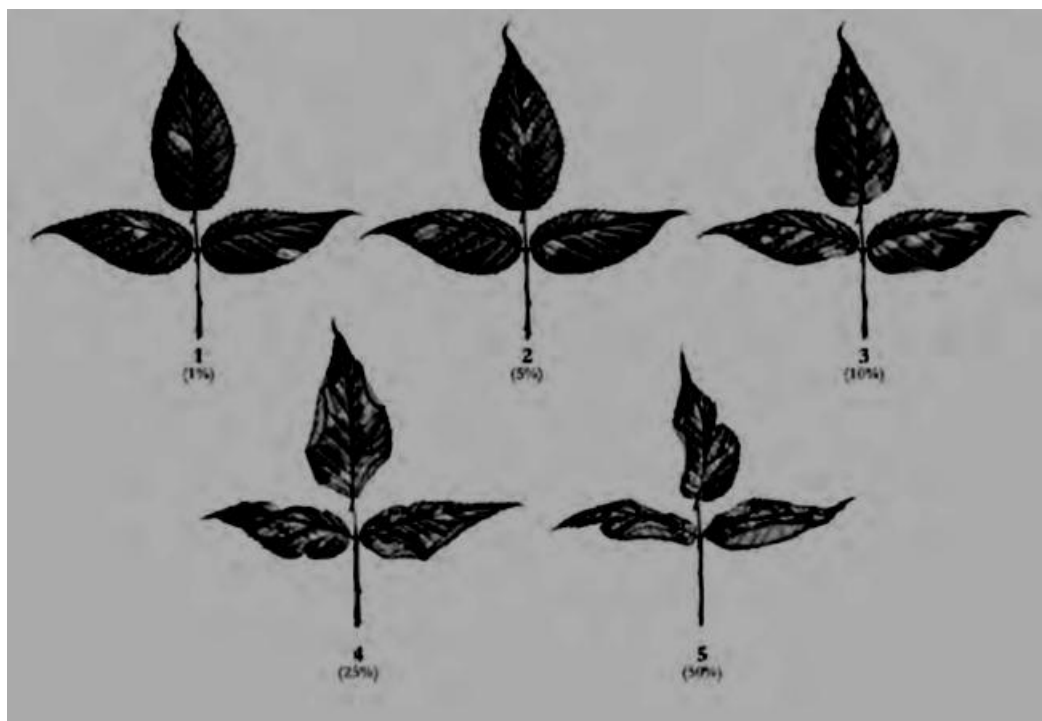


Figura 14. Niveles de severidad de enfermedades fúngicas en hojas.

FUENTE: (Franco et al. 2017)

Tabla 6. Escala diafragmática para la evaluación de antracnosis

Síntomas en tejido	Grado
Sano	0
Decolorado	1
Hundido	2
Necrosis	3
Esporulado	4
Pudrición	5

Fuente: El Autor

Cada grado hace referencia a un porcentaje 1%, 5%, 10%, 25% y 50%, respectivamente.

De Igual forma la severidad se registró en tablas individuales al igual que la incidencia.

- ***Incidencia y severidad de antracnosis en tallos:***

Para la determinación de la incidencia en tallos se procedió a contar los tallos principales existentes en la planta y el número de tallos enfermos o que presentaron síntomas de antracnosis, se hizo uso de la ecuación 1, al igual que en las hojas para obtener el porcentaje de incidencia.

En el caso de la severidad se hizo uso de un diagrama visual que considera cinco niveles de severidad (ver figura 15).

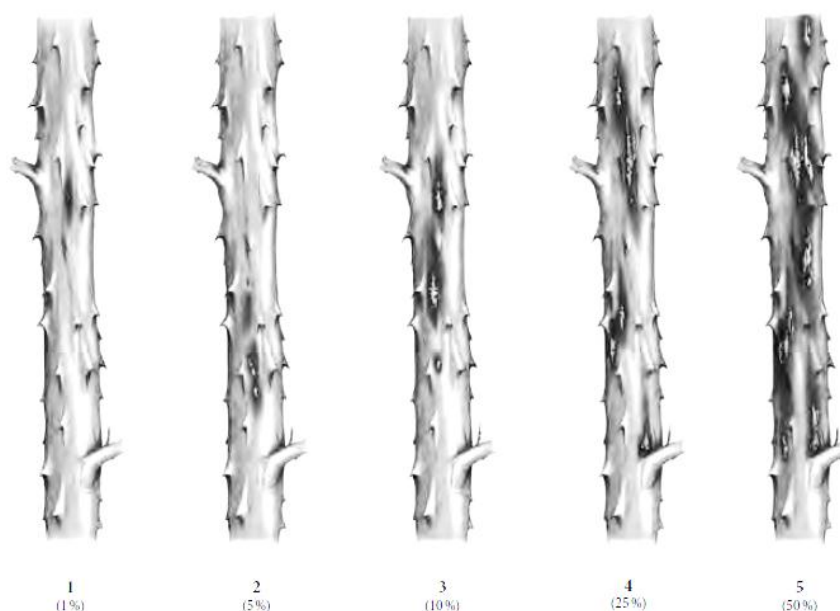


Figura 15 Ilustraciones que representan diferentes niveles de severidad de antracnosis en tallos.

Fuente: (Franco et al. 2017)

Para ambos casos se registró los datos en tablas individuales al igual que en los apartados anteriores.

3.1.3.7 Comparación las características obtenidas en la base de datos mediante un modelo estadístico

Se procedió a realizar una prueba de Shapiro-Wilk, para corroborar que los datos proceden de una población normal, una vez que se confirmó el supuesto, se procedió a aplicar el modelo estadístico (ANOVA), en el caso de confirmarse que estadísticamente hubo diferencias significativas, se compara los tratamientos, mediante la prueba de Duncan al 5%, para dichas comparaciones se hizo uso de los programas INFOSTAT y SPSS.

Se realizó una comparación de medias para cada tratamiento y tomando en cuenta las variables de estudio, con el fin de determinar los tratamientos que presentan una menor incidencia y severidad, por ende, mayor actividad antifúngica.

CAPITULO 4

4.1 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1.1 Determinación de tres concentraciones de AET para su aplicación en cultivos de tomate de árbol

Las concentraciones que se obtuvieron para cada tratamiento fueron de 35%, 60% y 85% para cada tratamiento T1, T2, y T3 respectivamente (ver tabla 7).

Tabla 7. Concentración de los componentes de cada tratamiento.

TRATAMIENTOS	AV(%)	AE (%)	COMPONENTES
T1	65	35	AET+AV
T2	40	60	AET+AV
T3	15	85	AET
TR	100	0	AV
TA	0	0	Agua

Fuente: El Autor

Dichos porcentajes se contrastan con los resultados de (Montero et al. 2018), en donde las CMI fueron desde el 1% frente a *Staphylococcus aureus* y a partir del 15% de concentración de AET, las placas quedaron totalmente inhibidas.

De igual forma en la misma investigación, en donde las CMI fueron del 2.4% y 10.1% de AET, concentraciones que arrojaron un porcentaje de inhibición de 39.11% y 15.38% frente a *P. multocida* y *B. bronchiseptica*, respectivamente.

Un panorama más claro de las concentraciones de AET obtenidas por tratamiento se aprecia en (figura 16).

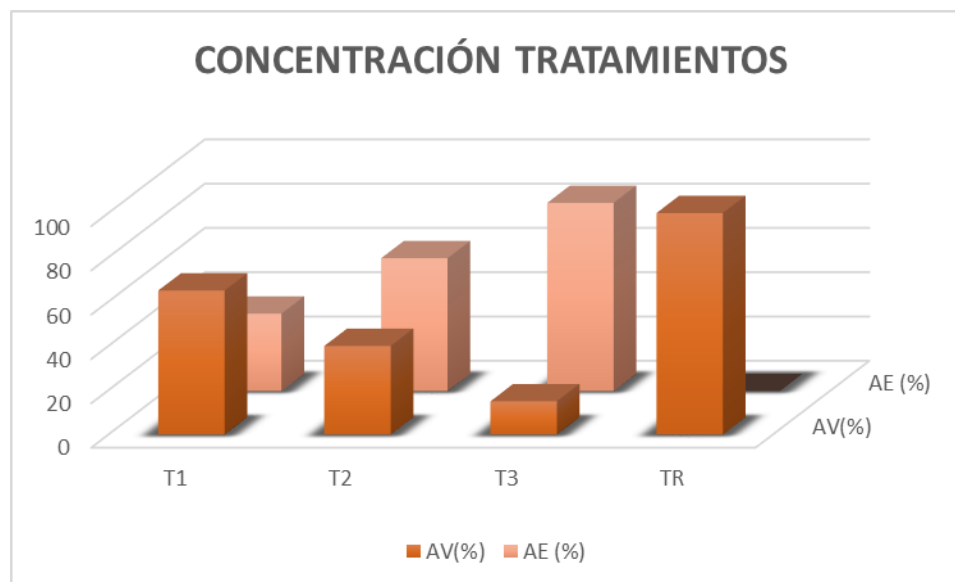


Figura 16. Concentración de AV vs concentración de AET para cada tratamiento

Fuente: El Autor

Según los resultados de Alzate et al. (2009), el AET, a una concentración de 350 mg/ml presenta una inhibición del hongo *Colletotrichum acutatum*, que oscila entre el 80% y 90%. Por lo mismo se tomó como base para la formulación del primer tratamiento de esta investigación.

En cuanto a la fitotoxicidad del AET utilizada como referencia, para la concentración máxima en los tratamientos no se encontró estudios adicionales al ya mencionado, con los cuales contrastar los resultados por lo cual la única referencia es la de la investigación citada anteriormente, en donde el AET no presentó efectos fitotóxicos sobre plántulas de tomate de árbol, en altas concentraciones y durante tres meses de aplicación.

4.1.2 Registro de características de la planta para el monitoreo de antracnosis

4.1.2.1 Test de Shapiro-Wilks para incidencia y severidad

- Hojas

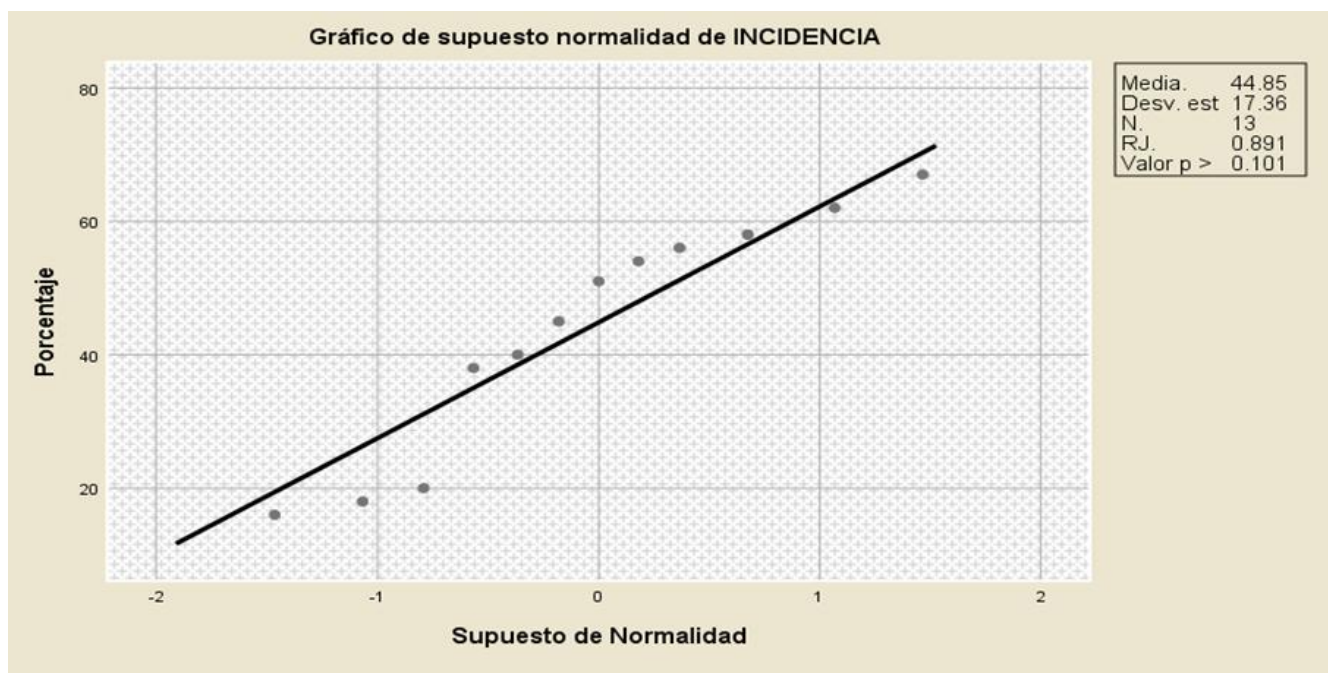


Figura 17. Test de Shapiro-Wilks para las observaciones semanales de incidencia en hojas

Fuente: El Autor

Tras realizar la prueba de normalidad (Figura 16), se puede concluir que los datos a evaluar proceden de una distribución normal ya que el valor $p > 0.101$, es mayor a la significancia de (0.05), por lo que se puede aplicar el modelo estadístico planteado.

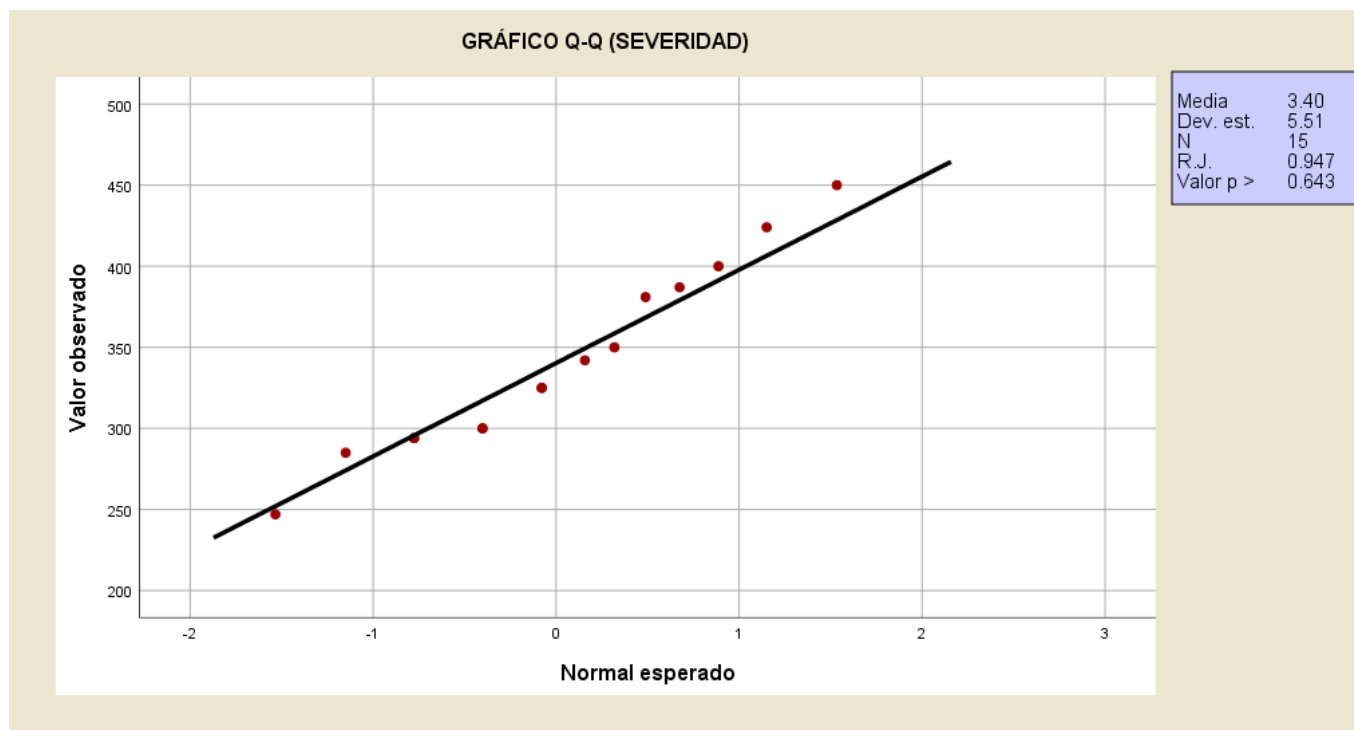


Figura 18. Test de Shapiro-Wilks para las observaciones semanales de severidad en hojas

Fuente: El Autor

Tras realizar la prueba de normalidad (Figura 18), se puede concluir que los datos a evaluar proceden de una distribución normal ya que el valor $p > 0.643$, es mayor a la significancia de (0.05), por lo que se puede aplicar el modelo estadístico planteado.

- Tallos

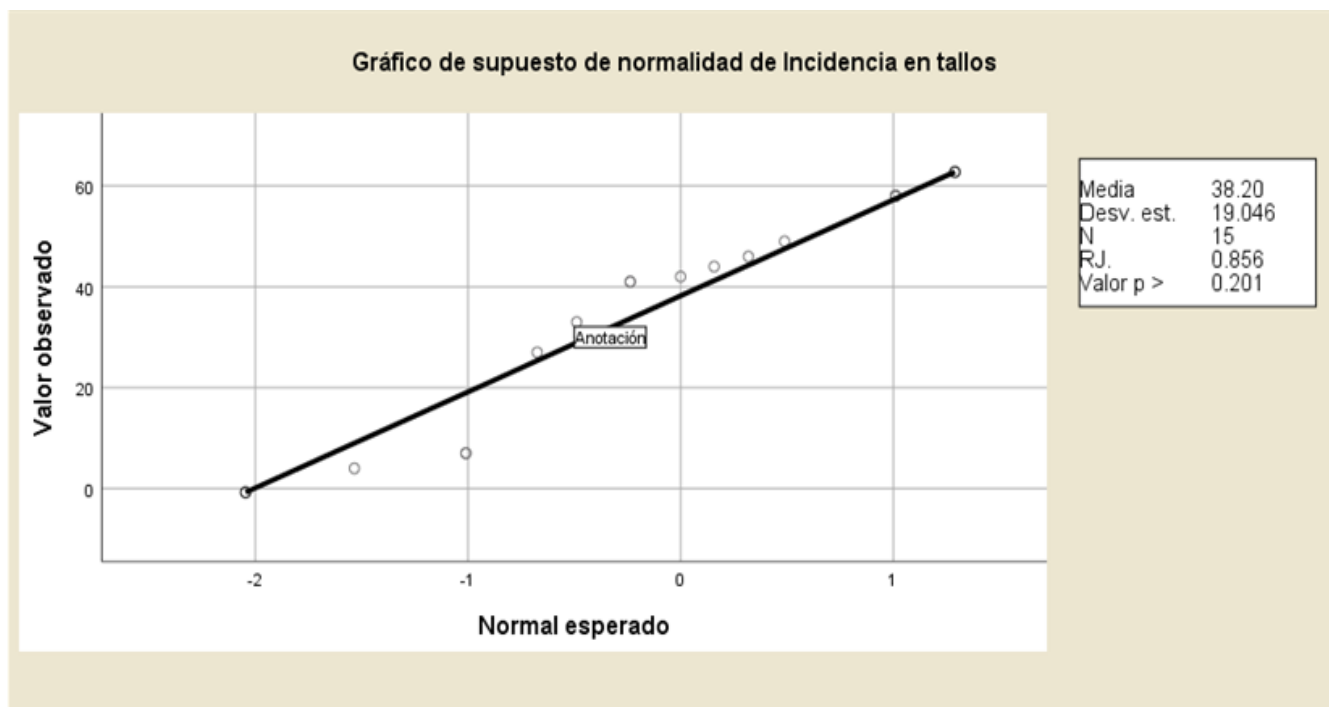


Figura 19. Test de Shapiro-Wilks para las observaciones semanales de incidencia en tallos

Fuente: El Autor

Tras realizar la prueba de normalidad (Figura 19), se puede concluir que los datos a evaluar proceden de una distribución normal ya que el valor $p > 0.201$, es mayor a la significancia de (0.05), por lo que se puede aplicar el modelo estadístico planteado.

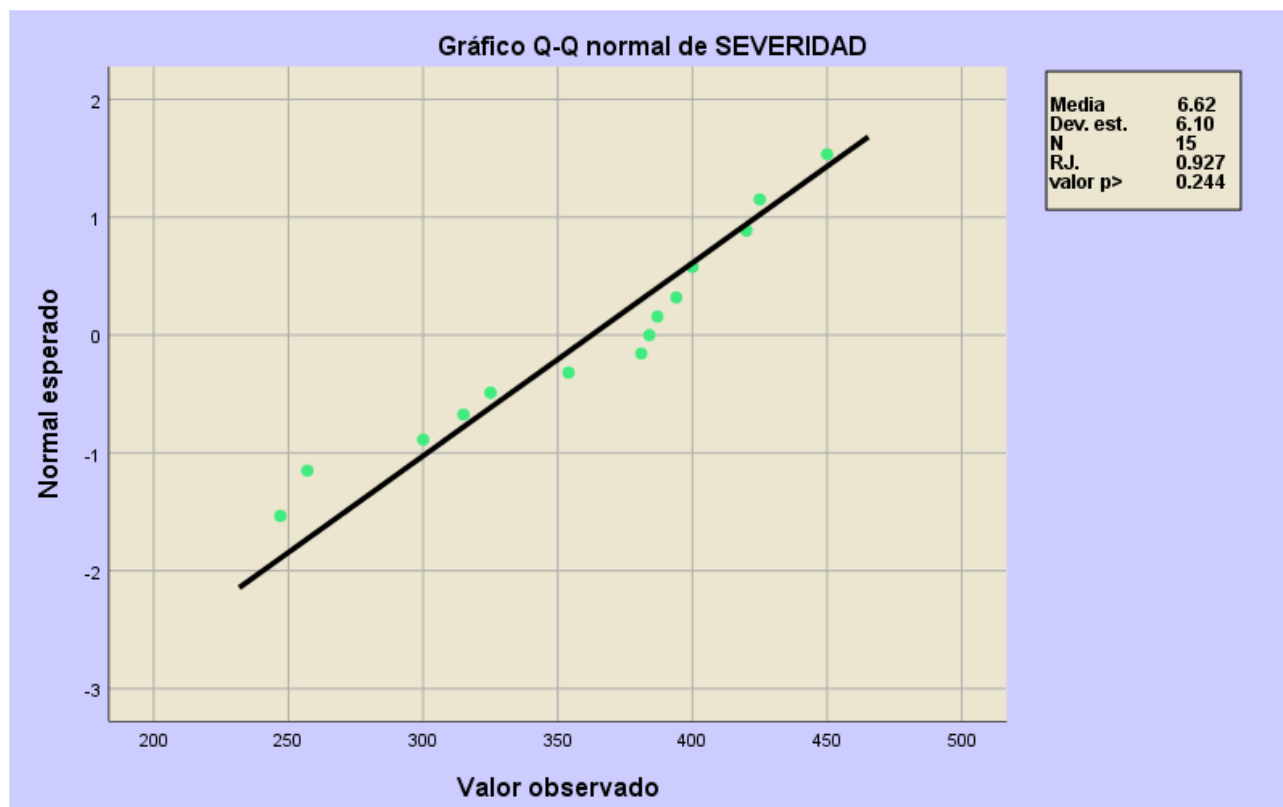


Figura 20. Test de Shapiro-Wilks para las observaciones semanales de severidad en tallos

Fuente: El Autor

Tras realizar la prueba de normalidad (Figura 20), se puede concluir que los datos a evaluar proceden de una distribución normal ya que el valor $p > 0.101$, es mayor a la significancia de (0.05), por lo que se puede aplicar el modelo estadístico planteado.

4.1.2.2. Antracnosis en hojas

- **Incidencia**

Los resultados del análisis de varianza no demostraron diferencia estadística significativa para repeticiones, mientras que en el caso de tratamientos se presentó diferencias entre sí del 1%. (ver tabla 8).

El análisis antes mencionado nos muestra un coeficiente de variación entre tratamientos equivalente a 6.59% y una incidencia promedio de 49.36%.

La incidencia promedio arrojada por el análisis, es relativamente alta, aunque según reporta Barriga (2012), el tomate de árbol presenta niveles de incidencia superiores al 60 % en hojas.

Tabla 8. ANOVA de incidencia de antracnosis en hojas bajo el efecto de los tratamientos

F.V	S.C.	gl	CM	F	p-valor
Modelo	5375.84	6	895.97	84.76	0.01
REPETICIONES	54.91	2	27.46	2.6	0.14
TRATAMIENTOS	5320.93	4	1330.23	125.84	0.01
Error	84.56	8	10.57		
Total	5460.41	14			

Elaboración: El Autor

- **Severidad**

De igual manera, el resultado del análisis de varianza en cuanto a la severidad, no se demostró que haya diferencias significativas entre repeticiones, a diferencia de los tratamientos los cuales presentaron diferencias, lo cual nos indica la influencia de las concentraciones de los mismos sobre este factor (ver tabla 9).

El análisis antes mencionado nos muestra un coeficiente de variación entre tratamientos equivalente a 11.11% y un promedio de 3.404%.

Tabla 9. Análisis de variancia (Severidad de antracnosis en hojas)

F.V	S.C.	GL	CM	F	p-valor
MODELO	3.49	6	0.58	4.07	0.04
REPETICIONES	2.89	2	1.44	10.1	0.01
TRATAMIENTOS	0.6	4	0.15	1.06	0.44
ERROR	1.14	8	0.14		
TOTAL	4.63	14			

Elaboración: El Autor

4.1.2.3. Antracnosis en tallos

- **Incidencia**

Basándose en el análisis de varianza (ver tabla 10), se puede determinar que de manera similar a los resultados en hojas no se observa discrepancia entre repeticiones, mientras que en tratamientos si se presenta dicha discrepancia.

El análisis antes mencionado nos muestra un coeficiente de variación entre tratamientos equivalente a 11.67%.

Tabla 10. ANOVA (Incidencia de antracnosis en tallos)

F.V	S.C.	gl	CM	F	p-valor
Modelo	4976.6	6	829.43	42.75	0.01
REPETICIONES	60.99	2	30.49	1.57	0.27
TRATAMIENTOS	4915.61	4	1228.9	63.34	0.01
Error	155.22	8	19.4		
Total	5131.82	14			

Elaboración: El Autor

- **Severidad**

En caso de los tallos el análisis de varianza no presentó diferencia para ningún factor, es decir, ni para los tratamientos ni repeticiones (ver tabla 11).

Tabla 11. Análisis de variancia de la severidad en tallos

F.V	S.C.	GL	CM	F	p-valor
MODELO	2.36	6	0.39	1.1	0.44
REPETICIONES	1.24	2	0.62	1.74	0.24
TRATAMIENTOS	1.12	4	0.28	0.79	0.56
ERROR	2.86	8	0.36		
TOTAL	5.22	14			

Elaboración: El Autor

4.1.3 Comparación las características obtenidas en la base de datos

4.1.3.1 Efecto del AET en diferentes concentraciones sobre la incidencia y severidad de antracnosis en hojas

- **Incidencia**

El tratamiento 3, el cual tenía una concentración de AET, fue el más funcional con respecto al tratamiento 2 y tratamiento 1, ya que obtuvo el menor porcentaje de incidencia en hojas 18%, de forma que se posiciona, según la prueba de Duncan 5% , en primer lugar respecto a los otros (ver tabla 12); en segunda posición se encuentra el tratamiento 2 el cual estaba formulado a una concentración de 50% de AET, con una incidencia de 41%, finalmente el tratamiento uno ocupa el último rango ya que presento una incidencia 54.33%, la cual se aproxima al testigo absoluto con una incidencia de 67% y al testigo referencial, el mismo, fue tratado únicamente con el solvente del AET, con una incidencia del 58.67%.

Tabla 12. Efecto de los tratamientos sobre la incidencia en hojas de tomate de árbol. Duncan 5%.

TRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.		
TA	67	1	3.11	A	
TR	58.67	3	1.8	A	B
T1	54.33	3	1.8		B
T2	41	3	1.8		C
T3	18	3	1.8		D

Medias con caracteres comunes no son diferentes $p>0.05$)

Elaboración: El Autor

En (figura 21), se expone el comportamiento de la incidencia en hojas de tomate de árbol bajo el efecto de cada uno de los tratamientos.

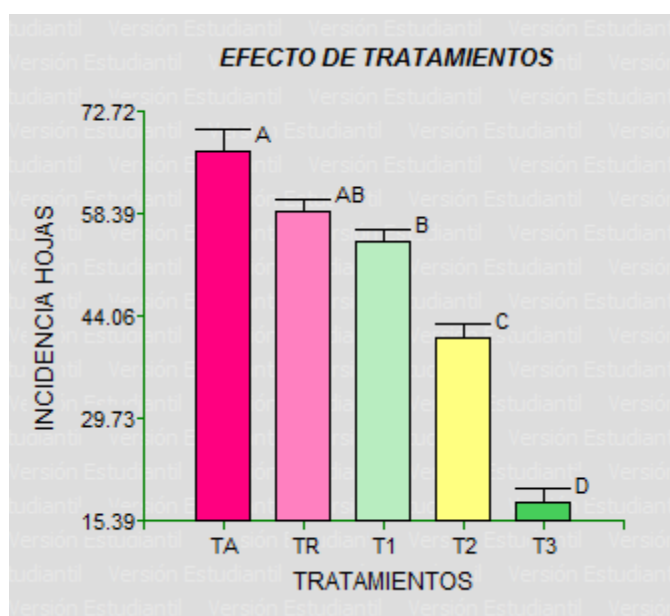


Figura 21. Gráfico de barras del porcentaje de incidencia de antracnosis en hojas por tratamiento.

Fuente: El Autor

T3 mostró una menor incidencia de antracnosis en hojas, por su parte T2 muestra una incidencia intermedia y T1 no muestra un control significativo de la incidencia con respecto a los TA y TR.

- **Severidad**

Según el análisis de Duncan 5% no existe diferencia estadística significativa para la severidad entre ninguno de los tratamientos (ver tabla 13).

Si observamos las medias de cada uno de los tratamientos podemos notar que pese a no existir diferencias significativas, fué T3 el que presento menor severidad con una media de 3.1, seguida de T2 con una media de 3.24 y T1 con una media de 3.5, sin embargo, los tres tratamientos fueron bastante similares a los testigos TR con una media de 3.62 y TA con una media de 3.56.

Tabla 13. Efecto de los tratamientos sobre la severidad en hojas tomate de árbol. Duncan 5%.

Tratamientos	Medias	N	E.E.	
T3	3.1	3	0.22	A
T2	3.24	3	0.22	A
T1	3.5	3	0.22	A
TA	3.56	3	0.22	A
TR	3.62	3	0.22	A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Elaboración: El Autor

La figura 22 nos permite visualizar, el comportamiento de la severidad en hojas de tomate de árbol bajo el efecto de cada uno de los tratamientos.

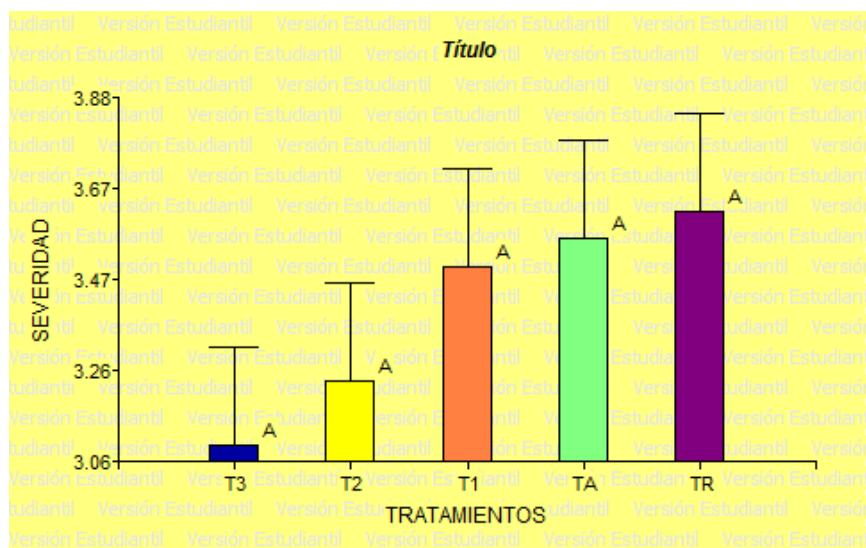


Figura 22. Porcentaje de severidad antracnosis en hojas por tratamiento.
Fuente: El Autor

Según se observa en la (figura 22), podemos ver que existe una mínima variación entre medias, siendo T3 el tratamiento que presentó una media inferior respecto a los otros tratamientos y los dos testigos.

4.1.3.2 Efecto de los tratamientos incidencia y severidad de antracnosis en tallos

- **Incidencia**

Según los resultados de la prueba de comparación de medias de Duncan 5%, podemos observar en la (tabla 14), que hubo diferencias significativas entre los tres tratamientos y también respecto a los testigos los cuales no presentaron diferencias significativas entre sí presentando medias de 2.54. El tratamiento de mayo concentración T3 presentó una menor incidencia en tallos con un valor de 6.13%, seguido de T2 con una media de 31.47, y T1 con una media de 42.47

Tabla 14. Incidencia de antracnosis en tallos por tratamiento. Duncan 5%.

Tratamiento	Media	N	E.E.	
T3	6.13	3	2.54	A
T2	31.47	3	2.54	B
T1	42.47	3	2.54	C
TR	50.83	3	2.54	D
TA	57.9	3	2.54	D

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Elaboración: El Autor

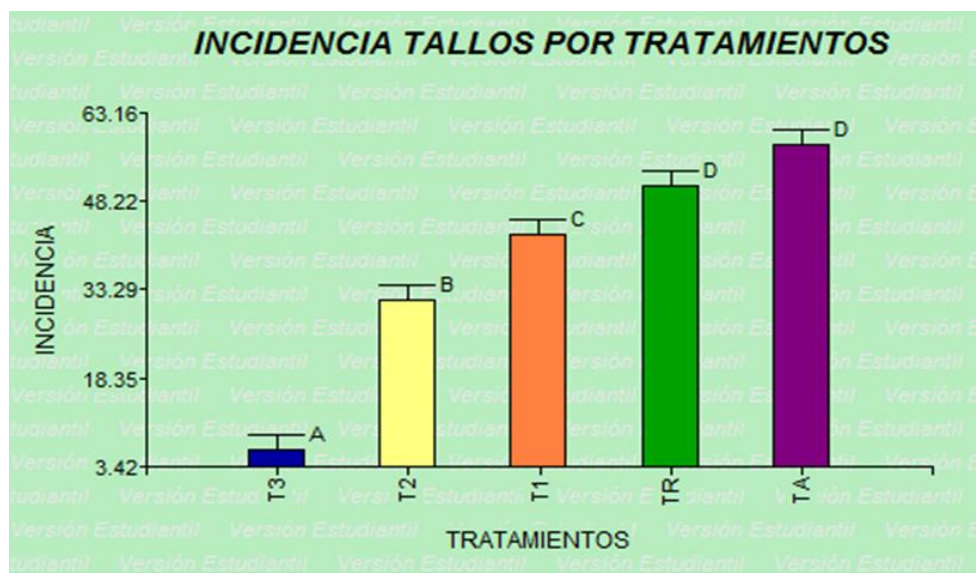


Figura 23. Gráfico de barras del porcentaje de incidencia de antracnosis en tallos por tratamiento.

Fuente: El Autor

Según se observa en la (figura 23), T3 mostró un mejor manejo del factor incidencia de antracnosis en tallos, por su parte T2 muestra una incidencia intermedia y T1 no muestra un control significativo de la incidencia con respecto a los TA y TR.

- **Severidad**

Como podemos observar en los resultados de la prueba de Duncan 5%, no se presentaron diferencias significativas entre ninguno de los tratamientos con respecto a los testigos TA y TR, si analizamos a simple vista las medias de cada uno de los tratamientos podemos observar que T3 es el que presenta el menor valor respecto a los TA y TR, sin embargo, esta diferencia es mínima por lo cual no se puede considerar que tenga alguna importancia.

Tabla 15. Efecto de los tratamientos sobre la severidad de antracnosis en tallos de tomate de árbol. Duncan 5%.

Tratamientos	Medias	N	E.E.	
T3	3.22	3	0.34	A
T2	3.49	3	0.34	A
TA	3.56	3	0.34	A
T1	3.9	3	0.34	A
TR	3.96	3	0.34	A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Elaboración: El Autor

Para una mayor comprensión al análisis antes mencionado, se puede observar en la (figura 24), el comportamiento de la incidencia en hojas de tomate de árbol bajo el efecto de cada uno de los tratamientos.

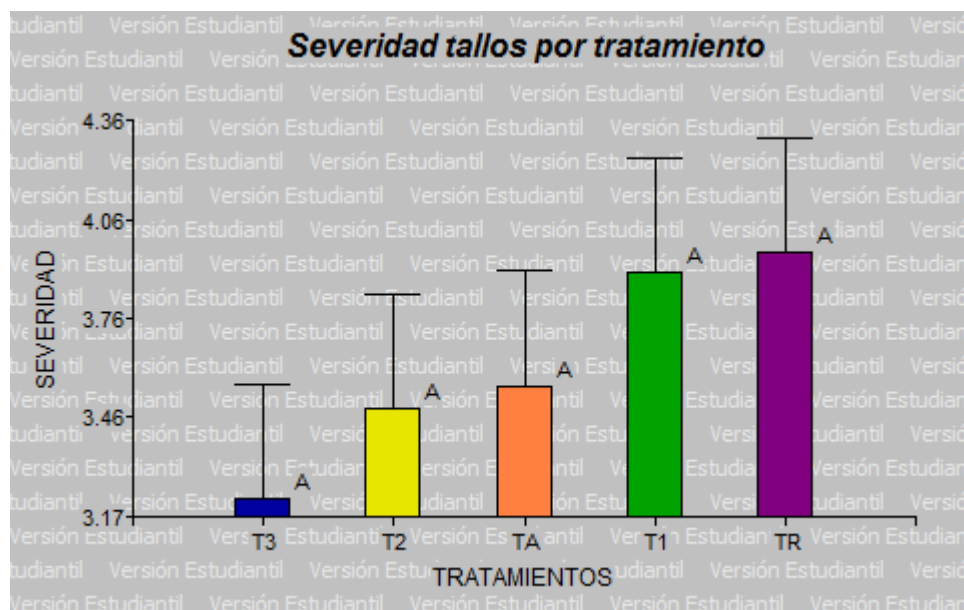


Figura 24. Gráfico de barras del porcentaje de severidad de antracnosis en tallos por tratamiento.

Fuente: El Autor.

Según se observa en la (figura 24), las medias de los tratamientos son bastante cercanas con respecto a TR y TA.

4.1.3.4 Incidencia y severidad de antracnosis en hojas por bloques

- **Incidencia**

En el caso de la incidencia respecto a las repeticiones no hubo diferencias significativas para las repeticiones. Es decir, ninguna repetición se diferencia de otra.

Tabla 16. Diferencia de medias (incidencia de antracnosis en hojas por repeticiones). Duncan 5%

Repeticiones	Medias	n	E.E	
3	51.48	5	1.45	A
2	49.75	5	1.45	A
1	46.84	5	1.45	A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Elaboración: El Autor

En la (figura 25), podemos observar de mejor manera los resultados de la prueba de Duncan 5% , donde se aprecia la cercanía que existe entre las medias de cada repetición.



Figura 25. Gráfico de barras (incidencia de antracnosis en hojas por repeticiones).

Fuente: El Autor

- **Severidad**

Como podemos observar en la (tabla 17), las repeticiones 1 y 2 no presentaron diferencias significativas entre sí, sin embargo, la repetición 3, se diferenció significativamente de las repeticiones 1 y 2, presentando la media más alta de severidad con un valor de 4.02.

Tabla 17. Diferencia de medias (severidad de antracnosis en hojas por repeticiones). Duncan 5%

Repeticiones	Medias	N	E.E.	
2	3.06	5	0.17	A
1	3.12	5	0.17	A
3	4.02	5	0.17	B

Medias con caracteres comunes no presentan diferencias ($p > 0.05$)

Elaboración: El Autor

En la figura 26, podemos apreciar de mejor forma las diferencias que existen entre las repeticiones, siendo 1 y 2 similares o sin diferencias significativas, sin embargo, la repetición 3 se diferencia significativamente de las otras dos repeticiones.

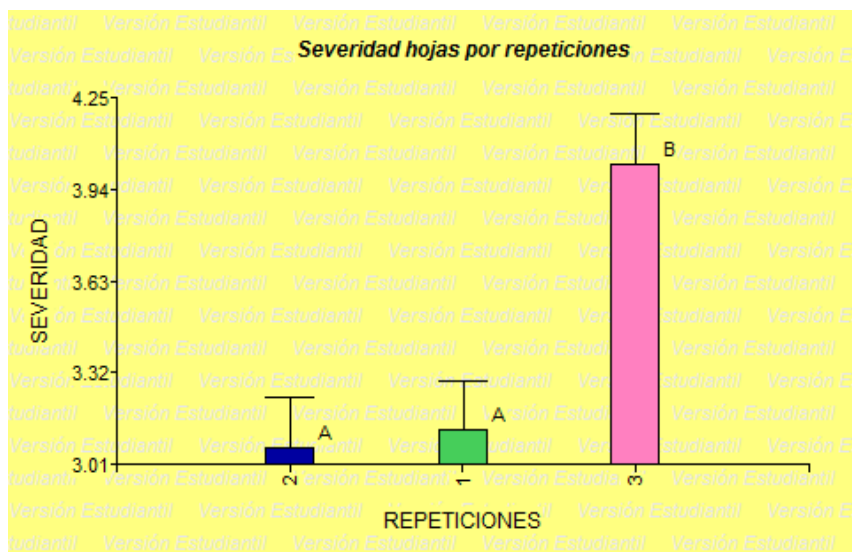


Figura 26. Gráfico de barras (incidencia de antracnosis por bloques).

Fuente: El Autor

4.1.3.3 Incidencia y severidad de antracnosis en tallos por bloques

- **Incidencia**

Tabla 18. Diferencia de medias de antracnosis en tallos por repeticiones. Duncan 5%

Repeticiones	Medias	N	E.E	
3	40.54	5	1.97	A
2	36.92	5	1.97	A
1	35.82	5	1.97	A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Elaboración: El Autor

Según la (tabla 18), podemos observar que no se presentaron diferencias significativas en incidencia de antracnosis en tallos, ya que todas las repeticiones obtuvieron letras comunes.

De igual, forma podemos observar en el gráfico de barras (Figura 27), los resultados obtenidos en la prueba de Duncan 5%.

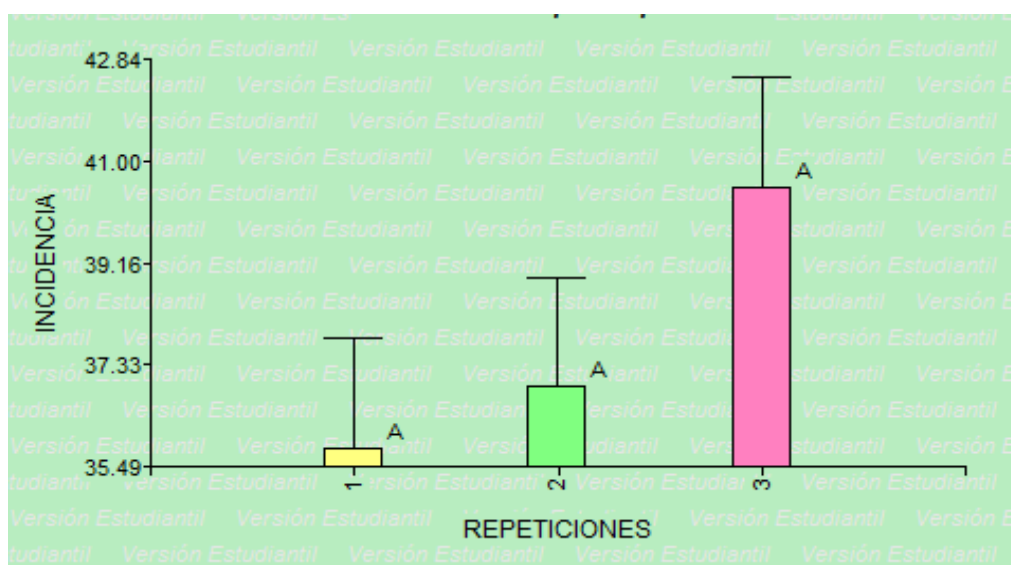


Figura 27. Gráfico de barras de Incidencia de antracnosis en tallos por repeticiones.

Fuete: El Autor

- **Severidad**

Tabla 19. Diferencia de medias (severidad de antracnosis en hojas por repeticiones). Duncan 5%

Repeticiones	Medias	N	E.E.	
2	3.24	5	0.27	A
3	3.7	5	0.27	A
1	3.94	5	0.27	A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Elaboración: El Autor

Referente a los tallos, los resultados de las pruebas de Duncan 5% no presentaron diferencias significativas para repeticiones.

Para una mejor comprensión, se puede observar la figura 28, en donde se aprecia la cercanía de las medias de cada repetición.

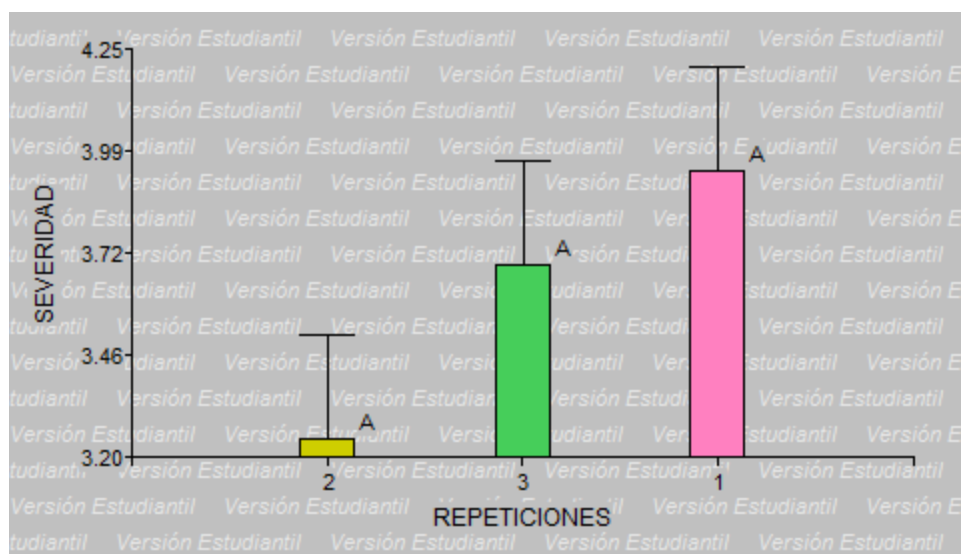


Figura 28. Gráfico de barras de la severidad de antracnosis en tallos por repeticiones.

Fuente: El autor

CAPÍTULO 5

5.1 CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1.1 Conclusiones

- Las concentraciones de los tratamientos se encontraron dentro de los límites de CMI, y concentración máxima de las bibliografías consultadas, por ende, se las puede considerar como válidas para llevar a cabo esta investigación.
- En base a los resultados arrojados para el efecto de los tratamientos en hojas se puede concluir que el T3, el cual tenía una concentración del 75% de AET, fue el único tratamiento funcional, o que presento una actividad antifúngica significativa con respecto a los testigos referencial y absoluto, seguido de T2 el cual también presento diferencia significativa con TA, aunque los niveles de incidencia fueron relativamente altos, por lo que no se lo podría incluir como un tratamiento funcional, sin embargo de igual forma demuestra cierto grado de control sobre el agente causal de antracnosis.
- Con respecto al efecto del AET, en tallos, no se puede determinar que ningún tratamiento muestre control sobre la enfermedad en esta parte de la planta ya que las medias para cada tratamiento no presentaron diferencias con respecto al TA.
- En cuanto a la influencia de los tratamientos sobre la severidad de la enfermedad en hojas, tampoco se encontró diferencias significativas con el TA, por lo que se afirma que para este factor el AET no muestra control, y por ende el tratamiento se puede clasificar como preventivo más no curativo.
- Para las repeticiones no se puede afirmar que en el caso de esta investigación la ubicación sea un factor influyente en la aplicación de los tratamientos ya que no se presentaron diferencias significativas en los factores de estudio para repeticiones.

- En el caso del T1, se puede concluir que no fue funcional ya que no presento diferencia significativa con respecto a TR y TA, por lo que se puede concluir que no tuvo efecto sobre el agente causal de antracnosis (*Colletotrichum acutatum*).

5.1.2 Recomendaciones

- Se recomienda realizar este experimento a grandes escalas ya que el mismo se realizó únicamente con cantidades mínimas, en pequeñas parcelas, debido al tiempo y costo del mismo, además de que la enfermedad tiende a ser más resistente en plantaciones de mayor área y por ende existen más factores que pueden afectar en el éxito del experimento.
- Se recomienda hacer este experimento en plantas de mayor edad que hayan comenzado su etapa de producción ya que la antracnosis en los frutos tiende a ser más resistente y representa la pérdida de la producción.
- Se debe llevar a cabo un estudio económico para establecer el costo beneficio de aplicación este método de control de organismos fitopatógenos, ya que, aunque resulte amigable con el medio ambiente y se resulta efectivo en parcelas pequeñas de cultivos, a gran escala puede resultar demasiado costoso en relación con el beneficio del mismo.
- Es aconsejable utilizar este tipo de tratamientos, como preventivos más no como curativos ya que una vez se da la infección de la planta por parte del patógeno, puede resultar más tedioso combatir la plaga y por ende mucho más costoso

- Se debe tomar en cuenta que durante el experimento hubo la presencia de constante lluvia por lo cual se recomienda, en futuras investigaciones tomar en cuenta dicho factor.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alvarado, Andrey, Ana Arroyo, Ana Fournier, Carolina Sánchez, Mauren Villalta, y Giovanni Garro-Monge. 2003. «Aspectos biológicos, usos agrícolas y medicinales del “tomate de palo” (*Cyphomandra betacea*)». *Revista Tecnología en Marcha* 16(4):68-72.
- Alvarez, Roger, Juan Manzano Méndez, William Materano, y Anne Valera. 2009. «Caracterización química y sensorial del vino artesanal de tomate de árbol (*Cyphomandra betacea* (Cav.) Sendth)». *Revista Científica UDO Agrícola* 9(2):436-41.
- Alzate, Diego, Gonzalo Mier, Lucía Afanador, Diego Durango, y Carlos García. 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». *Vitae* 16(1):116-25.
- Andrade, Gabriela, Alejandro Manelik García, Lourdes Cervantes, Carlos Enrique Aíl, Jesús Borboa, y Edgar O. Rueda. 2017. «Study of the autochthonous plants as a potential biocontroller in». *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias* 17.
- Arévalo, Galo. 2017. «EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA in vitro DE CINCO EXTRACTOS VEGETALES (EV) CONTRA *Colletotrichum* spp. AISLADO DE TOMATE DE ÁRBOL (*Solanum betaceum*).» UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO, Ecuador.
- Aviles, Katiusca. 2012. «Estudio del Proceso de Rehidratación de Tomate de Arbol Deshidratado (*Solanum betaceum* cav) Variedad Anaranjado Gigante.» *Dspace ESPOCH*. Recuperado 21 de noviembre de 2019 (<http://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/2017>).
- Bailey, J., R. O’Connell, R. Pring, y C. Nash. 2009. «Infection Strategies of *Colletotrichum* Species.» *CAB International Wallingford UK*, 88-120.
- Baquero, Maria Jose, y Libia Maria Perez Castro. 2002. «UNIVERSIDAD DE SUCRE FACULTAD DE CIENCIAS Y EDUCACIÓN PROGRAMA DE BIOLOGÍA SINCELEJO 2002». 72.
- Barrera, L., y L. García. 2008. «Actividad antifúngica de aceites esenciales y sus compuestos sobre el crecimiento de *Fusarium* sp. aislado de papaya (*Carica papaya*)». *Revista Científica UDO Agrícola* 8(1):33-41.
- Barriga, Liseth. 2012. «EVALUACIÓN DE LA RESISTENCIA A *Colletotrichum acutatum* De POBLACIONES DE TOMATE DE ÁRBOL (*Solanum betaceum* Cav) EN ESTADO DE PLÁTULA CUTUGLAHUA-PICHINCHA 2011.» Universidad Politécnica Salesiana, Quito: Ecuador.

- Blázquez, M. 2014. «Role of Natural Essential Oils in Sustainable Agriculture and Food Preservation». *Journal of Scientific Research and Reports* 3.
- Burri, Anahí, y Oswaldo Piarpuezán. 2013. «“EVALUACION AGRONÓMICA DE TRES DENSIDADES DE SIEMBRA EN EL CULTIVO DE TOMILLO *Thymus vulgaris*, MEDIANTE LA APLICACIÓN DE TRES FERTILIZANTES ORGÁNICOS, CON FINES DE EXPORTACIÓN, EN LA PARROQUIA DE YARUQUI, PROVINCIA DE PICHINCHA”». UNIVERSIDAD ESTATAL DE BOLÍVAR, GUARANDA: ECUADOR.
- Burt, Sara. 2004. «Essential Oils: Their Antibacterial Properties and Potential Applications in Foods—a Review». *International Journal of Food Microbiology* 94(3):223-53.
- Bustamante, Karina. 2015. «Caracterización morfológica y molecular de *Colletotrichum* spp., en tomate de árbol (*Solanum betaceum*) en la sierra ecuatoriana.» Universidad Central del Ecuador, Pichincha, Ecuador.
- Cáceres, Juan Pablo, y Manuel Froilán Gualipa. 2009. «Evaluación del control de ojo de pollo (*colletotrichum gloeosporioides* penz) en tomate de arbol (*solanum betaceum*) utilizando fungicidad de síntesis y biológicos en plantas productivas».
- Cameroni, M. 2010. *AROMÁTICAS, ESPECIAS Y ACEITES ESENCIALES*.
- Cannon, P. F., U. Damm, P. R. Johnston, y B. S. Weir. 2012. «*Colletotrichum* – current status and future directions». *Studies in Mycology* 73(1):181-213.
- Chambi, Luz, y Karen Quiroz. 2017. «“EXTRACCIÓN DE ACEITE ESENCIAL DE TOMILLO (*Thymus Vulgaris* L.) Y SU EVALUACIÓN APLICADA A LA CONSERVACIÓN DE EMBUTIDOS TIPO CHORIZO”». UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN AGUSTIN DE AREQUIPA, Arequipa: Perú.
- CLIMATE-DATA ORG. s. f. «Clima Paute: Temperatura, Climograma y Tabla climática para Paute - Climate-Data.org». Recuperado 17 de febrero de 2020 (<https://es.climate-data.org/america-del-sur/ecuador/provincia-del-azuay/paute-25439/#climate-graph>).
- Contreras, Camilo. 2006. «CARACTERIZACIÓN Y PRUEBAS DE PATOGENICIDAD CRUZADA». 115.
- Corrales, Lucía, Ligia Sánchez, Jairo Cuervo, Julie Joya, y Katherine Márquez. 2012. «Efecto Biocontrolador de “*Bacillus*” spp., Frente a “*Fusarium*” sp., Bajo Condiciones de Invernadero en Plantas de Tomillo (“*Thymus Vulgaris* l”).». *Nova* 10(17):64-82.
- Damm, U., P. Cannon, J. Woudenberg, y P. Crous. 2012. «The *Colletotrichum acutatum* species complex». *Studies in Mycology* 73:37-113.
- Delgado, Claudia. 2013. «CARACTERIZACION MORFOLOGICA, PATOGENICA Y MOLECULAR DE ESPECIES DE *Colletotrichum* spp. CAUSANTES DE LA

ANTRACNOSIS DEL FRUTO DE AJI Y PIMENTON *Capsicum* spp. EN EL VALLE DEL CAUCA.» 109.

- Flores, Patricia. 2007. «Proyecto para la producción de tomate de árbol en San Gabriel, Provincia del Carchi y su comercialización en los principales mercados de la Ciudad De Quito». *Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE*. Recuperado 20 de noviembre de 2019 (<http://repositorio.espe.edu.ec/handle/21000/2311>).
- Franco, Germán, Alegría saldarriaga, Cipriano Díaz, y Gladis Múnera. 2017. *Manual de campo para reconocimiento monitoreo y manejo de las enfermedades de la mora Rubus glaucus Benth.*
- Freeman, Stanley, Ezra Shabi, y Talma Katan. 1998. «Characterization of *Colletotrichum acutatum* Causing Anthracnose of Anemone (*Anemone coronaria* L.)». *Applied and Environmental Microbiology* 66(12):5267-72.
- Garzón, Roberto. 2015. «CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA DE HONGOS FITOPATÓGENOS EN EL CULTIVO DE TOMATE DE ÁRBOL (*Solanum betaceum*), SECTOR PATAIN – COTOPAXI. 2014». 112.
- Gavilanes, Elizabeth. 2009. «Actividad Biocontroladora de Aceites Esenciales ante Antracnosis (*Colletotrichum* Spp.) de Tomate de Arbol (*Solanum Betacea*)». 106.
- Guamán, Alejandra. 2018. «Caracterización morfológica, molecular y de resistencia a fungicidas de *Colletotrichum* sp., aislado de tomate de árbol (*Solanum betaceum*)». 106.
- Hernández, Viviana Gaviria, Luis Fernando Patiño Hoyos, y Alegría Saldarriaga Cardona. 2013. «Evaluación in vitro de fungicidas comerciales para el control de *Colletotrichum* spp., en mora de castilla». *Ciencia y Tecnología Agropecuaria* 14(1):67-75.
- Huayana, Orosco, y Florinda Yavarí. 2017. «Efecto de la temperatura en la cinética de degradación del ácido ascórbico en pulpa de tomate de árbol (*solanum betaceum*).» *Universidad Nacional José María Arguedas*.
- INEC. 2010. «Encuesta de superficie y producción agropecuaria continua». *INSTITUTO NACIONAL DE ESTADÍSTICA Y CENSOS*.
- INEC, y MAG. 2019. «Cifras Agroproductivas». *MINISTERIO DE AGRICULTURA Y GANADERÍA*. Recuperado 21 de mayo de 2019 (<http://sipa.agricultura.gob.ec/index.php/cifras-agroproductivas>).
- Inlago, María, y María Zambrano. 2014. «Determinación de la actividad antimicótica in vitro del extracto de tomillo (*Thymus vulgaris*) en comparación con la nistatina y el gluconato de clorhexidina al 0,2% sobre cepas de *Candida albicans*». 106.
- Jeffries, P., J. Dodd, M. Jeger, y R. Plumbey. 1990. *The biology and control of Colletotrichum species on tropical fruit crops*. Vol. 3.

- Lagos, Eduardo. 2012. «DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA in vitro DEL ACEITE ESENCIAL *Thymus vulgaris* L. “Tomillo” FRENTE A *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277 CAUSANTE DE GINGIVITIS». UNIVERSIDAD NACIONAL JORGE BASADRE GROHMANN - TACNA, Tacna: Perú.
- Latorre, B., C. Lillio, y M. Rioja. 2005. «EFICACIA DE LOS TRATAMIENTOS FUNGICIDAS PARA EL CONTROL DE *Botrytis cinerea* DE LA VID EN FUNCION DE LA EPOCA DE APLICACION». *CIENCIA E INVESTIGACION AGRARIA* 5(39):7.
- León, Juan, Pablo Viteri, y Guillermo Cevallos. 2004. *Manual del cultivo de tomate de árbol. Manu*. 64. Quito: Ecuador.
- López, A., L. Ruiz, y M. Delgadillo. 2016. «ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DEL ACEITE ESENCIAL DE TOMILLO (*Thymus vulgaris* L.)». 78-82.
- Maita, Segundo. 2011. *MANEJO DEL «OJO DE POLLO» O ANTRACNOSIS (*Colletotrichum acutatum* Sinmonds) EN EL CULTIVO DE TOMATE DE ÁRBOL (*Solanum betaceum* Cav).* Vol. 1. Cuenca: Ecuador: EDUNICA.
- Marqués, Manuel. 2015. «Composición química de los aceites esenciales de Lavanda y Tomillo. Determinación de la actividad antifúngica.» *Ingeniería del agua* 18(1):ix.
- Márquez, Manuel. 2014. «Universitat Politècnica de València». *Ingeniería del agua* 18(1):ix.
- Montero, Mayra, Juan Carlos Mira, Diana Avilés, Pilar Pazmiño, y Ramiro Erazo. 2018. «Eficacia antimicrobiana del aceite esencial de tomillo (*Thymus vulgaris*) sobre una cepa de *Staphylococcus aureus*». *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú* 29(2):588-93.
- OMS. 2007. *La equidad en la mira: la salud pública en Ecuador durante las últimas décadas*. Quito: Noción.
- Ortega, Amanda. 2018. «Determinación del efecto antimicrobiano de los aceites esenciales de tomillo (*Thymus vulgaris*) y orégano (*Origanum vulgare*) frente a la bacteria *Staphylococcus aureus* ATCC: 12600». 96.
- Oussalah, Mounia, Stéphane Caillet, y Monique Lacroix. 2006. «Mechanism of Action of Spanish Oregano, Chinese Cinnamon, and Savory Essential Oils against Cell Membranes and Walls of *Escherichia Coli* O157:H7 and *Listeria Monocytogenes*». *Journal of Food Protection* 69(5):1046-55.
- Paucar, Carlos, María Guazhún, Agustín Macas, Fabián Zuñiga, y Leonardo Arízaga. 2015. *GAD Parroquial Rural de Chicán. Plan de desarrollo*. 1. Chicán.
- Peña, Gabriela, Fabiola Esquivel, Miguel Martinez, y Citlati Colin. 2019. «Control de *Alternaria alternata* y *Colletotrichum gloeosporioides* aislados de mango mediante el uso de envases activos de aceite tomillo». *XVI encuentro Participación de la Mujer en la Ciencia*.

- Recuperado 10 de junio de 2019
(https://congresos.cio.mx/16_enc_mujer/cd_congreso/archivos/resumenes/S2/S2-ING30.pdf).
- Pérez, Edel. 2012. «PLAGUICIDAS BOTÁNICOS: UNA ALTERNATIVA A TENER EN CUENTA». *Fitosanidad* 16:51-59.
- Pérez, Griselda, Antonio González, Ken Oyama, y Pablo Cuevas. 2013. «Importancia de la diversidad genética sobre la defensa química de plantas y las comunidades de herbívoros». 2 15(2):9.
- Pérez, V. 2008. «Proyecto de investigación de los antioxidantes del tomillo». *Agricultura de los EE.UU.* Recuperado 19 de febrero de 2019
(<http://repositorio.upct.es/bitstream/handle/10317/159/proyecto%20del%20tomil?sequence=2>).
- Perugachi, Barriga, y Liseth Yajaira. 2012. «Evaluación de la resistencia a *Colletotrichum acutatum* de poblaciones de tomate de árbol (*Solanum betaceum* Cav) en estado de plántula: Cutuglahua - Pichincha 2011».
- Prestes, Luciana, Ricardo Frascolla, Rosema Santin, Marco Aurelio Ziemann dos Santos, Renata Costa Schram, Maria Regina Alves Rodrigues, Luiz Filipe Damé Schuch, y Mario Carlos Araújo Meireles. 2008. «Actividad de extractos de orégano y tomillo frente a microorganismos asociados con otitis externa». *Revista Cubana de Plantas Medicinales* 13(4):0-0.
- Quirós, Marcia, Natalia Peres, y Luis Arauz. 2013. «EN HELECHO HOJA DE CUERO, LIMÓN CRIOLLO, PAPAYA, CARAMBOLA Y MANGO EN COSTA RICA Y FLORIDA (ESTADOS UNIDOS)». *AGRONOMÍA COSTARRICENSE* 1(37):16.
- Revelo, Eliana. 2014. «Caracterización genética de *Colletotrichum* Spp. agente causal de antracnosis en tomate de árbol (*Solanum Betaceum*) en el Valle de Sibundoy, Putumayo». Recuperado 16 de diciembre de 2019
(<http://biblioteca.udenar.edu.co:8085/atenea/biblioteca/90061.pdf>).
- Reyes, R., y O. Sanabria. 1993. «“Plantas promisorias: Tomate de palo”». *GRUPO ETNOBOTÁNICO LATINOAMERICANO*. Recuperado 5 de mayo de 2019
(<http://www.ibiologia.unam.mx/jardin/gela/page12>>).
- Rojas, Miriam M., Mylene Corzo López, Yaima Sánchez Pérez, Deyamín Brito, Rodney Montes de Oca, Yadira Martínez, y Oriela Pino Pérez. 2014. «Actividad antibacteriana de aceites esenciales sobre *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum*». *Revista de Protección Vegetal* 29(3):197-203.
- Salazar, Hemerson. 1998. «Evaluación de fungicidas contra antracnosis (*Colletotrichum gloeosporioides*) en maracuyá y diagnóstico de sus enfermedades fungosas en Olancho, Honduras». 66.

- Sánchez, L., Ch González, A. Chiralt, y M. Cháfer. 2010. «FUNGICIDAS NATURALES: UNA ALTERNATIVA A LOS QUÍMICOS CONVENCIONALES EN LA POSTCOSECHA DE LA PRODUCCIÓN ECOLÓGICA». *IX Congreso SEAE Lleida*, 12.
- SUIA. 2012. «SUIA: Sistema Único de Información Ambiental». *Ministerio del Ambiente*. Recuperado 29 de mayo de 2019 (<http://snia.ambiente.gob.ec:8090/indicadoresambientales/pages/indicators.jsf>).
- Tamayo, J. 2001. *Principales enfermedades del tomate de árbol, la mora y el lulo en Colombia*. Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria - CORPOICA.
- Trujillo, Juan. 2014. «MÉTODOS DE CONTROL MÁS EFICIENTES PARA LA ANTRACNOSIS». Universidad Nacional Abierta y a Distancia, La Plata.
- Vega, Debora. 2013. «Procesamiento del tomate de árbol (*Cyphomandra betacea*) para obtener una bebida alimentaria de bajos grados brix». Universidad de Guayaquil.
- Velasteguí, Edwin. 2013. «“EVALUACIÓN DE BIOFERTILIZANTE EN EL CULTIVO DE ORÉGANO (*Origanum vulgare* L.) EN LA GRANJA EXPERIMENTAL QUEROCHACA”». UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO, AMBATO-ECUADOR.
- Villegas, Iván. 2009. *Area: Manejo integrado de cultivos / frutales de altura. Boletín Técnico*. 8. San José-Costa Rica: Instituto Nacional de Innovación y Transferencia de Tecnología Agropecuaria.
- Wharton, Phillip S., y Javier Diéguez. 2004. «The Biology of *Colletotrichum Acutatum*». *Anales Del Jardín Botánico de Madrid* 1(61):3-22.
- Winward, GP, LM Avery, T. Stephenson, y B. Jefferson. 2008. «Water Research». *Essential oils for the disinfection of grey water.*, 2260-68.

ANEXOS

FECHA: 18/03/19

1. ¿Qué tiempo de siembra tienen el cultivo de tomate de árbol?
2. ¿Qué otros cultivos se encuentran aledaños al tomate de árbol?
3. ¿Qué problemas ha presentado el cultivo de tomate de árbol?
4. ¿Cuál considera el más importante?
5. ¿Por qué lo considera importante?
6. ¿Qué fertilizantes usan y cada cuánto se los aplica?
7. ¿Qué tipos de malezas se presentan?
8. ¿Cómo controla sus malezas?
9. ¿Qué insectos afectan al cultivo y cómo lo hacen?
10. ¿Qué otras enfermedades se presentan?
11. ¿Para el control de enfermedades que aplica y en que rango de tiempo?
12. ¿Cuándo apareció la antracnosis en los cultivos?
13. ¿En qué épocas se presenta?
14. ¿Qué parte de la planta afecta?
15. ¿Cuánto tiempo dura una vez que se presenta?
16. ¿Qué productos aplica para la antracnosis y a que dosis?
17. ¿Qué hace para evitarla?

Anexo 1. Encuesta sobre diagnóstico de Antracnosis y estado de los cultivos de tomate de árbol

1. Las plantaciones tienen entre 4 y 6 meses de edad
2. Aledañas a las plantaciones de tomate de árbol se encuentran cultivos de fréjol
3. La antracnosis y malezas
4. La presencia de Antracnosis es el principal problema ya que las malezas no representan mayor dificultad
5. Por que evita el desarrollo y producción de la planta, ya que afecta a todas las partes de la misma.
6. Se realizo una única aplicación de urea
7. La principal es el sacate, existen otras en menores proporciones y sin mayor importancia
8. Se realiza únicamente control manual cortando las malezas con machete
9. No existe la presencia de insectos plaga
10. Hasta el momento se ha presentado únicamente la antracnosis en cultivos anteriores ha existido la presencia de fusarium cuando el cultivo tiene más tiempo de vida
11. No se a hecho uso de ningún producto químico para el control de enfermedades hasta el momento.
12. El problema se presenta desde el inicio del cultivo
13. En épocas de lluvias
14. Afecta tallos, hojas y frutos, en cultivos previos al cultivo actual afecta principalmente en el fruto, seguido de las hojas.
15. Generalmente todo el año
16. No se aplicado ningún tipo se fungicida
17. Únicamente se realiza el control de malezas y podas sanitarias

Anexo 2. Respuesta a la encuesta sobre antracnosis y estado del cultivo por parte del técnico.



ISABRUBOTANIK S.A.
 Av. Indomérica Km 6, Ambato – Ecuador
 Telf.: +593 32 436166
 E-Mail: info@isabru.com - Website: www.isabru.com
 RUC: 1891726755001

FICHA TECNICA

NOMBRE COMERCIAL: ACEITE ESENCIAL DE TOMILLO
LOTE: 170921
FECHA DE PRODUCCION: SEPTIEMBRE 2017
MEJOR ANTES DE: SEPTIEMBRE 2019

PARAMETRO	ANALISIS	REFERENCIA
APARIENCIA	CUMPLE	LIQUIDO
COLOR	CUMPLE	AMARILLO OSCURO
GRAVEDAD ESPECIFICA (20°C)	0.949	ENTRE 0.936 – 0.956
INDICE DE REFRACCION (20°C)	1.513	ENTRE 1.507 – 1.517
AROMA	CUMPLE	HERBAL CARACTERISTICO
SOLUBILIDAD	CUMPLE	AGUA: INSOLUBLE ETANOL: SOLUBLE

COMPONENTES PRINCIPALES (%GC)

TIMOL	46.1
P-CIMENO	33.8
γ-TERPINENO	8.4
CARIOFILENO	5.4
LINALOL	3.4
CARVACROL	2.8

ESTE DOCUMENTO HA SIDO AUTORIZADO POR LA GERENCIA GENERAL, PROCESADO ELECTRONICAMENTE, POR LO TANTO ES VALIDO SIN FIRMA.

La información contenida en este documento representa el conocimiento disponible que ISABRUBOTANIK S.A. tiene sobre el producto y no debe, de ninguna manera, ser considerado como un índice de idoneidad del producto para un fin determinado.

Es responsabilidad del usuario determinar la idoneidad de cualquier uso específico del producto y el efecto de su combinación con otros productos.

ISABRUBOTANIK S.A. no se responsabiliza del uso irresponsable, inadecuado o ilegal, directo o indirecto, de la información y/o el producto aquí indicados, y tampoco por daños derivados de su uso por terceros.

ISABRUBOTANIK S.A. - "La naturaleza en cada gota"
 ... porque para vivir bien, no se debería utilizar en el cuerpo nada que no se pueda comer!

Anexo 3. Ficha técnica del AET, proporcionada por la compañía ISABRUBOTANIK S.A.

VARIABLE DE ESTUDIO																
X	SEMANA 1	SEMANA 2	SEMANA 3	SEMANA 4	SEMANA 5	SEMANA 6	SEMANA 7	SEMANA 8	SEMANA 9	SEMANA 10	SEMANA 11	SEMANA 12	SEMANA 13	SEMANA 14	SEMANA 15	SEMANA 16
P1(T1r1)																
P2(T1r2)																
P3(T1r3)																
P4(T2r1)																
P5(T2r2)																
P6(T2r3)																
P7(T3r1)																
P8(T3r2)																
P9(T3r3)																
P10(TRr1)																
P11(TRr2)																
P12(TRr3)																
P13 (TA)																

Anexo 4. Tabla de recolección de datos

