

UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA

SEDE CUENCA

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y AMBIENTALES

CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA INDUSTRIAL

Tesis previa a la

Obtención del Título de

Ingeniero Agropecuario Industrial

TEMA: “CONTROL BIOLÓGICO DE LA ANTRACNOSIS (*Colletotrichum gloeosporioides* Penz) EN TOMATE DE ÁRBOL (*Solanum betaceum*), EN EL ECOTIPO: Amarillo puntón, MEDIANTE HONGOS ENDOFITOS ANTAGONISTAS”.

AUTORA: MARÍA IPATIA RÍOS MADRIL

DIRECTOR: Lic. ERNESTO DELGADO FERNÁNDEZ MSc.

PAUTE – AZUAY, 2010

“CONTROL BIOLÓGICO DE LA ANTRACNOSIS (*Colletotrichum gloeosporioides* Penz) EN TOMATE DE ÁRBOL (*Solanum betaceum*), EN EL ECOTIPO: Amarillo puntón, MEDIANTE HONGOS ENDOFITOS ANTAGONISTAS”

CERTIFICADO

Que el presente trabajo de tesis de grado “CONTROL BIOLÓGICO DE LA ANTRACNOSIS (*Colletotrichum gloeosporioides* Penz) EN TOMATE DE ÁRBOL (*Solanum betaceum*), EN EL ECOTIPO: Amarillo puntón, MEDIANTE HONGOS ENDOFITOS ANTAGONISTAS” cumple con el reglamento de grados y títulos de la Facultad de Ciencias Agropecuarias y Ambientales de la Universidad Politécnica Salesiana y que ha sido correctamente elaborada por la Egda. María Ipatia Ríos Madrid, y revisada en cada una de sus etapas por lo tanto autorizo su presentación.

Paute.....de Octubre del 2010

.....
Lic. Ernesto Delgado Fernández MSc.

DIRECTOR DE TESIS

RESPONSABILIDAD

Los conceptos desarrollados, los análisis realizados y las conclusiones de este trabajo son de exclusiva responsabilidad de la autora.

Paute....de Octubre del 2010

.....

María Ipatia Ríos Madril

DEDICATORIA

Este trabajo lo dedico especialmente a mi madre que está en el cielo, por haber sido mi mayor fuerza e inspiración para seguir adelante con mi carrera estudiantil, y sobre todo porque, con su paciencia amor y ternura fue mi mejor maestra en las enseñanzas de la vida.

A mi padre, que siempre estuvo brindándome su amor, y ejemplo de perseverancia y paciencia en la lucha diaria, para poder culminar con mi meta estudiantil, y realizarme como profesional.

A mi hermana, por haber sido mi segunda madre y amiga, pero sobre todo porque siempre estuvo a mi lado en todo momento.

LA AUTORA

AGRADECIMIENTO

Agradezco a Dios por haberme permitido estar en este mundo y por ser esa fuerza interior indispensable para poder luchar por mis metas y anhelos.

A mi padre porque gracias a su apoyo incondicional y comprensión, he podido terminar con mi carrera estudiantil.

De igual manera a mi hermana, porque ella con su ejemplo y paciencia supo guiarme especialmente en el campo estudiantil.

También quiero agradecer de una forma muy especial a mi director de tesis Msc. Ernesto Delgado, y al Ing. Santiago Vázquez, que siempre recordaré con cariño ya que estuvieron en todo momento prestos a compartir conmigo sus conocimientos y experiencias, lo que me permitió terminar este trabajo investigativo con éxito.

Agradezco también a mis maestros por compartir sus sabios conocimientos con entereza.

A mis compañeros, porque con ellos he compartido muchas experiencias que me han ayudado a crecer como persona. A familiares y amigos por haberme apoyado moralmente, ayudándome a seguir adelante.

LA AUTORA

ÍNDICE DE CONTENIDOS	Página
RESUMEN.....	13
CAPITULO I	
1. INTRODUCCION.....	17
1.2. OBJETIVOS.....	19
1.2.1. General.....	19
1.2.2. Específicos.....	19
1.3. ENUNCIADO HIPOTÉTICO.....	20
1.3.1. Hipótesis nula.....	20
1.3.2. Hipótesis alternativa.....	20
1.4. MARCO TEÓRICO.....	21
1.4.1. EL CULTIVO DE TOMATE DE ÁRBOL.....	21
1.4.1.1. Taxonomía.....	23
1.4.1.2. Descripción botánica.....	23
1.4.1.3 Requerimientos del cultivo.....	24
1.4.1.3.1 Luminosidad o Radiación.....	24
1.4.1.3.2 Temperatura.....	25
1.4.1.3.3 Humedad Relativa.....	25
1.4.1.3.4 Suelos.....	26
1.4.1.4. Propagación del tomate.....	26
1.4.1.5 Transplante.....	27
1.4.1.6 Sistema de plantación.....	27
1.4.1.7 Labores culturales.....	28
1.4.1.7.1 Podas.....	28
1.4.1.7.2 Deshierbas.....	28
1.4.1.7.3. Riegos.....	29
1.4.1.7.4. Fertilización.....	29
1.4.1.7.5. Limpieza del área.....	30
1.4.1.7.6. Tutoreo.....	30
1.4.1.7.7. Aporque.....	30
1.4.1.7.8. Mantenimiento de camas.....	30
1.4.1.7.9. Mantenimiento de drenes.....	30
1.4.1.8. Composición química del fruto.....	31

1.4.1.9. Consumo.....	31
1.4.1.10. Propiedades y beneficios de tomate de árbol.....	31
1.4.1.11. Conservación de tomate de árbol.....	32
1.4.1.12. Cosecha.....	32
1.4.1.13. Postcosecha.....	32
1.4.2. FITOPATOLOGÍA DEL TOMATE DE ÁRBOL.....	33
1.4.2.1. Principales enfermedades producidas por hongos.....	33
1.4.2.1.1. Damping-off.....	33
1.4.2.1.2. Podredumbres de cuello y raíces, causadas por <i>Fusarium oxysporum sp.</i>	34
1.4.2.1.3. Oídium, causado por <i>Oidium sp.</i>	35
1.4.2.1.4. Esclerotiniosis o Podredumbre blanca, causada por <i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	35
1.4.2.1.5. Mildiu del tomate, causado por <i>Phytophthora infestan</i>	36
1.4.2.1.6. Mancha negra del tronco, causada por <i>Fusarium solani</i>	37
1.4.2.1.7. Alternariosis del tomate, causada por <i>Alternaria solani</i>	38
1.4.2.2. Principales enfermedades causadas por bacterias.....	39
1.4.2.2.1. Chancro bacteriano del tomate, causado por <i>Clavibacter michiganensis sp.</i>	39
1.4.2.2.2. Marchitez Bacterial, causada por <i>Pseudomonas solanacearum</i> ...	39
1.4.2.2.3. Podredumbres blandas, causadas por <i>Erwinia carotovora sp.</i>	40
1.4.2.3. Principales enfermedades causadas por virus.....	40
1.4.2.3.1. Virus del bronceado del tomate (TSWV).....	40
1.4.2.3.2. Virus del mosaico del pepino (CMV).....	41
1.4.2.3.3. Virus del rizado amarillo del tomate (TYLV).....	41
1.4.2.3.4. Virus del mosaico del tomate.....	42
1.4.2.4. Principales plagas que afectan al cultivo.....	42
1.4.2.4.1. Pulgones (<i>Myziis sp.</i>).....	42
1.4.2.4.2. Crisomólidos.....	43
1.4.2.4.3. Chinche o chinchorro (<i>Leptoglossus zoiatiis</i>).....	44
1.4.2.4.4. Gusano trozador (<i>Agrotis sp.</i>).....	44
1.4.2.5. Principales enfermedades causadas por nemátodos.....	45
1.4.2.5.1. Nudo de la raíz (<i>Meloidogine incognita</i>).....	45

1.5. LA ANTRACNOSIS.....	46
1.5.1. Generalidades.....	46
1.5.2. Hongos del género <i>Colletotrichum</i>	47
1.5.2.1. Generalidades del patógeno.....	47
1.5.2.2. Taxonomía del hongo del género <i>Colletotrichum</i>	49
1.5.2.3 Características biológicas del género <i>Colletotrichum</i>	50
1.5.3. ANTRACNOSIS, CAUSADA POR <i>Colletotrichum</i> <i>gloeosporioides</i> Penz EN TOMATE DE ÁRBOL <i>Solanum betaceum</i>	51
1.5.3.1. Taxonomía del hongo <i>Colletotrichum</i>	52
1.5.3.2. Características.....	53
1.5.3.3. Síntomas.....	53
1.5.3.4. Epidemiología.....	54
1.5.3.5. Nutrición del patógeno.....	55
1.5.3.6. Fuentes de inóculo del patógeno.....	55
1.5.3.7. Fase latente en frutos de tomate de árbol.....	55
1.5.3.8. Hibernación del hongo patógeno.....	56
1.5.3.9. Asociación del patógeno con otros microorganismos.....	56
1.5.3.10. Pérdidas causadas por efectos de la enfermedad.....	57
1.5.3.11. Diagnostico de la producción de tomate de árbol en la zona de Paute....	57
1.5.3.12. Labores culturales recomendadas	57
1.5.4. CONTROL BIOLÓGICO.....	58
1.5.4.1. Mecanismos mediante los cuales los antagonistas ejercen su acción.....	59
1.5.4.2. Antibiosis.....	59
1.5.4.3. Competencia.....	60
1.5.4.4. Parasitismo.....	60
1.5.4.5. Predación.....	60
1.5.4.6. Inducción de resistencia.....	60
1.5.4.7. Ventajas del control biológico.....	61
1.5.5. ENDOFITISMO.....	61
1.5.5.1. Características.....	62
1.5.5.2. Interacción hongo endófito-vegetal en los mecanismos de defensa.....	63

1.5.5.3. Efectos fisiológicos en el hospedero.....	63
1.5.6. MEDIOS DE CULTIVO MICROBIOLÓGICO.....	64
1.5.6.1. Medios de cultivo para hongos.....	64
1.5.6.4. Medios de cultivo según su utilización.....	65
1.5.6.4.1. Medios para aislamiento.....	65
1.5.6.4.2. Medios de identificación.....	65
1.5.6.4.3. Medios de mantenimiento de de cepas.....	65

CAPÍTULO II

MATERIALES Y MÉTODOS

2. RECURSOS Y METODOLOGÍA.....	66
2.1. Recursos.....	66
2.1.1. Recursos humanos.....	66
2.1.2. Equipos y herramientas.....	66
2.1.3. Insumos y reactivos.....	68
2.1.6 Recursos biológicos.....	68
2.2. Metodología.....	69
2.2.1. Delimitación del lugar de investigación y duración.....	69
2.2.2. Datos climatológicos del lugar de experimento.....	69
2.3. Factores de estudio.....	70
2.4. Tratamientos bajo estudio.....	70
2.5. Metodología empleada.....	70
2.5.1. Diseño experimental.....	70
2.5.2. Población y muestreo.....	71
2.6. DESARROLLO DE LA INVESTIGACIÓN.....	72
2.6.1. Toma de muestras (frutos infestados).....	72
2.6.2. Preparación de medios de cultivos MEA (Medio Agar Extracto de Algas) y PDA (Agar Dextrosa de Papa).....	72
2.6.3. Preparación y siembra de las muestras de los frutos de <i>Solanum betaceum</i> infestados con <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> Penz.....	73
2.6.4. Obtención del cultivo puro.....	74
2.6.5. Caracterización del hongo (<i>Colletotrichum gloeosporioides</i> Penz)	75
2.6.6. Insolamiento de los hongos endófitos y patógenos.....	75
2.6.7. Valoración in vitro de la actividad de antagonismo dual endófito-hongo fitopatógeno.....	76

2.6.8. Toma de datos.....	77
2.6.9. Producción del inóculo de los hongos antagonistas y el patógeno.....	77
2.6.10. Adecuación y mantenimiento de las plantas.....	78
2.6.11. Inoculación de los tratamiento.....	79
2.6.12. Toma de datos.....	80
CAPÍTULO III	
3. RESULTADOS.....	82
3.1. Porcentaje de antagonismo (en laboratorio).....	82
3.2. Resultados en el campo.....	83
3.2.1. Número de hojas infectadas.....	83
3.2.2. Altura final.....	84
3.2.3. Biomasa fresca.....	85
3.2.4. Temperatura y humedad.....	87
3.3. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	88
3.3.1. Conclusiones.....	88
3.3.2. Recomendaciones.....	89
3.4. Bibliografía.....	90
Anexos.....	96

ÍNDICE DE CUADROS	Página
Cuadro 1: Taxonomía del tomate de árbol (<i>Solanum betaceum</i>).....	23
Cuadro 2: Estado anamorfo del género <i>Colletotrichum</i>	49
Cuadro 3: Estado telemorfo del género <i>Colletotrichum</i>	49
Cuadro 4: Taxonomía de la Antracnosis causado por <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> Penz.....	52
Cuadro 5: Fuente: Estación experimental del Colegio 26 de Febrero, Paute	69
Cuadro 6: Tratamientos bajo estudio.....	70
Cuadro 7: Esquema del Análisis de Varianza.....	71
Cuadro 8: PORCENTAJE DE ANTAGONISMO	82
Cuadro 9: Número de hojas infectadas obtenido en control biológico de la antracnosis (<i>Colletotrichum gloeosporioides</i> Penz) en tomate de árbol (<i>Solanum betaceum</i>), en el ecotipo: Amarillo puntón, mediante hongos endófitos antagonistas.	83
Cuadro 10: Análisis de Varianza para el carácter número de hojas infectadas.....	83
Cuadro 11: Prueba de Tukey 95% para el carácter número de hojas.....	83
Cuadro 12: Altura final obtenido en el control biológico de la antracnosis (<i>Colletotrichum gloeosporioides</i> Penz) en tomate de árbol (<i>Solanum betaceum</i>), en el ecotipo: Amarillo puntón, mediante hongos endófitos antagonistas, expresado en cm.	84
Cuadro 13: Análisis de Varianza para el carácter altura final en cm.....	84
Cuadro 14: Prueba de Tukey 95% para el carácter altura final en cm.....	85
Cuadro 15: Biomasa fresca obtenido en el control biológico de la antracnosis (<i>Colletotrichum gloeosporioides</i> Penz) en tomate de árbol (<i>Solanum betaceum</i>), en el ecotipo: Amarillo puntón, mediante hongos endófitos antagonistas, expresado en gr.....	85
Cuadro 16: Análisis de Varianza para el carácter biomasa fresca en g.....	86
Cuadro 17: Prueba de Tukey 95% para el carácter biomasa fresca en g.....	86
Cuadro 18: Temperatura y humedad obtenida en el control biológico de la antracnosis (<i>Colletotrichum gloeosporioides</i> Penz) en tomate de árbol (<i>Solanum betaceum</i>), en el ecotipo: Amarillo puntón, mediante hongos endófitos antagonistas.....	87

ÍNDICE DE ANEXOS	Página
1. CRONOGRAMA DE CTIVIDADES.....	96
2. Costo total de la investigación.....	97
3. CROQUIS DEL ENSAYO EN EL CAMPO (macetas).....	98
4. DATOS.....	99
4.1. Biomasa fresca/ gr.....	99
4.2. Número de hojas infectadas.....	100
4.3. Longitud final.....	101
4.4. Temperatura y humedad.....	102

RESUMEN

“CONTROL BIOLÓGICO DE LA ANTRACNOSIS (*Colletotrichum gloeosporioides* Penz)” EN TOMATE DE ÁRBOL (*Solanum betaceum*), EN EL ECOTIPO: Amarillo puntón, MEDIANTE HONGOS ENDOFITOS ANTAGONISTAS”

Este proyecto se realizó entre los meses de diciembre del 2009 hasta junio del 2010; en la Facultad de Ciencias Agropecuarias y Ambientales de la Universidad Politécnica Salesiana ubicada en el campus “Juan Lunardi” sector Yumacay, Cantón Paute, Provincia del Azuay, con las siguientes características meteorológicas: Temperatura 16-22 °C, Humedad Relativa 65-75%, Pluviosidad 500-1500mm, Velocidad del viento 1.5-2.0Km/h (promedio anual), Evaporación 8cc/día, Altitud 2180m.s.n.m, Longitud 78° 45´19” Este, Latitud 2° 46´ 45” Sur,

Se investigó sobre el control de la antracnosis (*Colletotrichum gloeosporioides* Penz) en tomate de árbol *Solanum betaceum*, conocido como ojo de pollo por los agricultores; mediante hongos endófitos antagonistas, aislados de dos plantas consideradas medicinales; la Chuquiragua (*Chuquiragua jussieui*) y Ñachag (*Bidens andicola*).

Los tratamientos que se empleó fueron: Tratamiento uno (T1) *Nigrospora* sp. codificado como A13, Tratamiento dos (T2) *Nigrospora* sp. codificado como A20 , Tratamiento tres (T3) Hongo X1 micelio estéril, Testigo Referencial (Tr) *Colletotrichum gloeosporioides* Penz, en suspensión de esporas con una dosis de 10ml por planta, y el Testigo Absoluto (T0) sin inoculación.

Durante el desarrollo de la investigación se evaluó el porcentaje de inhibición de los hongos endófitos antagonistas, a nivel de laboratorio.

En el campo se estudio la eficacia del control de los hongos antagonistas ante el patógeno, con plantas de tres meses de edad en condiciones semicontroladas de microclima, utilizando los siguientes indicadores: longitud final de la planta, biomasa fresca, número de hojas infectadas, humedad y temperatura.

Para realizar el análisis estadístico se utilizó el diseño experimental de Bloques Completamente al azar, con tres tratamientos, un testigo absoluto y un testigo referencial; cada uno con cuatro repeticiones.

Los tratamientos 1 (Suspensión de esporas *Nigrospora sp.* codificado como A13) y 3 (Suspensión de esporas micelio estéril HX1), estadísticamente presentan un rango similar, mientras que las plantas que corresponden al tratamiento 2 *Nigrosporas*. codificado como A20 presentan mayor vigor y desarrollo lo que corrobora el análisis estadístico realizado.

Los resultados demuestran la disminución y control de los daños causados por la antracnosis (*Colletotrichum gloeosporioides* Penz) en *Solanum betaceum*, se puede afirmar que dicha cepa no interfiere negativamente en la fisiología del cultivo, y posiblemente promueva un mejor desarrollo de la biomasa, ya que las plantas pertenecientes a este tratamiento se observaron con mayor vigor.

Se recomienda probar inóculos combinados de hongos endófitos antagonistas, evaluar el potencial antagónico a campo abierto y en condiciones ambientales diversas, además de evaluar el uso de macro y micro nutrientes en la potenciación de la efectividad del biocontrol.

ABSTRACT

"BIOLOGICAL CONTROL TO THE ANTRACNOSIS (*Colletotrichum gloeosporioides* Penz) IN TOMATO OF TREE (*Solanum betaceum*) IN THE Variety: YELLOW PUNCH BY MEANS OF MUSHROOMS INSIDE PHYTO ANTAGONISTICS"

This project was carried out among the months he/she gives December he/she gives the 2009 until June he/she gives the 2010; in the Ability to the Agricultural and Environmental Sciences of the Polytechnic University Salesiana located in the campus Juan Lunardi area Yumacay, Paute Canton, County of the Azuay, with the following ones characteristic meteorological: Temperature 16-22 °C, relative humidity 65-75%, precipitations 500-1500mm, windspeed 1.5-2.0Km/h (I average yearly), Evaporation 8cc/día, Altitude 2180m.s.n.m, Longitude 78° 45' 19 This, Latitude 2° 46' 45 South.

It was investigated on the control of the (*Colletotrichum gloeosporioides* Penz) in tomato of the tree *Solanum betaceum*, well-known as eye of the chicken for the farmers; by means of mushrooms antagonistic, isolated inside phyto of two medicinal considered plants; the Chuquiragua (*Chuquiragua jussieui*) and Ñachag (*Bidens andicola*).

The treatments that it was used were: Treatment one (T1) *Nigrospora sp.* coded as A13, Treatment two (T2) *Nigrospora sp.* coded as A20, Treatment two (T3) Mushroom X1 sterile micelio, Witness Indexes (Tr) *Colletotrichum gloeosporioides* Penz, in suspension of the spores with a dose to 10ml for plant, and the Absolute Witness (T0) without inoculation.

During the development to the investigation the percentage it was evaluated to inhibition of the mushrooms inside phyto antagonistic at grade in the laboratory.

In the field you study the effectiveness gives the control of the antagonistic mushrooms before the pathogen, with plants from three months of age under half controlled conditions of the micro climate, using the following indicators: final longitude gives the plant, fresh biomass, number of the infected leaves, humidity and temperature.

To carry out the statistical analysis the experimental design it was used the Totally at random Blocks, with three treatments, an absolute witness and a witness indexes; each one with four repetitions.

The treatments 1 (Suspension of spores *Nigrospora sp.* coded as A13) and 3 (Suspension of spores sterile micelio HX1), statistically they present a similar range, while the plants that correspond to the treatment 2 *Nigrospora sp.* coded as A20 they present bigger vigor and development what corroborates the realized statistical analysis.

The results demonstrate the decrease and control gives the damages caused by the (*Colletotrichum gloeosporioides Penz*) in *Solanum betaceum*, one can affirm that this stump doesn't interfere negatively in the physiology in the cultivation, and possibly promote a better development of the biomass, since the plants belonging to this treatment were observed with more vigor.

It is recommended to prove I inoculate cocktails of the mushrooms inside plant antagonistic, to evaluate the antagonistic potential to open field and under diverse environmental conditions, besides evaluating the use of macro and nutritious micro in the potentiating of the effectiveness to the alive control.

CAPÍTULO I

1. INTRODUCCIÓN

Una de las causas que afecta los rendimientos en la producción de tomate de árbol (*Solanum betaceum*) a nivel mundial es la incidencia de hongos patógenos, sobresaliendo la antracnosis del fruto, la misma que es conocida en el Ecuador por los agricultores como “Ojo de pollo”. Esta enfermedad es causada por el hongo *Colletotrichum gloeosporioides* Penz, que es el estado anamorfo (asexual o imperfecto) de *Glomerella cingulata* que es el estado telemorfo (sexual o perfecto), perteneciente a la clase *Coelomycetes*.

En la actualidad esta enfermedad ha llegado a convertirse en uno de los principales problemas de este cultivo. La agresividad de este hongo ha llevado a la disminución del rendimiento en grandes porcentajes, ya que afecta hojas y ramas, siendo el daño más notorio en los frutos, los cuales son afectados en todos sus estados.

Los síntomas se manifiestan con mayor frecuencia en el ápice o en los puntos en que varios frutos de una misma Inflorescencia quedan en contacto, debido a que allí existe mayor acumulación de agua, por tiempo más prolongado, lo cual favorece el desarrollo inicial del hongo.

La enfermedad se presenta mediante manchas ligeramente hundidas de color negro, que pueden llegar a cubrir todo el fruto. Cuando el ataque ocurre sobre frutos pequeños, estos se momifican y quedan adheridos al árbol. Si se presenta en frutos ya formados pero todavía verdes, aparece una coloración amarillenta de maduración prematura, con exhibición posterior de las manchas negras en el exterior, en caso de afectar frutos próximos a recolección, las manchas son pequeñas o aun inexistentes, pero el daño se manifiesta durante el transporte o el almacenamiento. El hongo hiberna en los restos de plantas afectadas, así como en las semillas; produce infecciones leves del follaje y tallos jóvenes que pueden pasar inadvertidas, pero que le permiten sobrevivir y reproducirse hasta que el fruto empieza a madurar y se hace susceptible a la infección.

Tradicionalmente para el control de la enfermedad se emplean fungicidas químicos, sin obtener resultados positivos, ya que este método de control presenta grandes desventajas, debido a que es costoso y poco amigable con el medioambiente, razón por la que vemos la necesidad de experimentar otras medidas de control que ayuden a una producción sana, y disminuir el efecto negativo al medioambiente.

“Estudios de la actividad biológica realizados sobre poblaciones de hongos endófitos presentes en dos plantas medicinales: Chuquiragua (*Chuquiragua jussieui*) y Ñachag (*Bidensandicola*), demuestran que algunas cepas de hongos endófitos, particularmente de la taxa “*Mycelia sterilia*” (micelios estériles) en donde destacan aislados promisorios del género *Nigrospora* y otros, manifiestan una elevada actividad antagónica in-vitro contra *Colletotrichum gloeosporioides* [...]”³.

La presente investigación tuvo como objetivo el uso de estos aislados promisorios en el biocontrol de la antracnosis de *Solanum betaceum* en condiciones semicontroladas bajo invernadero.

³Delgado E. 2009 Actividad biológica de hongos endófitos presentes en dos plantas medicinales chuquiragua (*Chuquiragua Jussieui J.F. Gemel*) y Ñachag (*Bidens andícola Kunth*) La Granja 9(2). Ediciones ABYA-YALA Universidad Politécnica Salesiana pág. 29

1.2. OBJETIVOS

1.2.1. General

Generar un manejo adecuado de la Antracnosis, (*Colletotrichum gloeosporioides* Penz) en tomate de árbol (*Solanum betaceum*) mediante el uso de microorganismos antagonistas (hongos endófitos).

1.2.3. Específicos

- Generar una alternativa de control biológico, para reducir la utilización de productos químicos.

- Determinar el medio adecuado para inocular el hongo endófito antagonista, para el control de la Antracnosis (*Colletotrichum gloeosporioides* Penz), en tomate de árbol (*Solanum betaceum*).

- Desarrollar una formulación básica, de un producto biológico para disminuir la incidencia de la enfermedad.

1.3. ENUNCIADO HIPOTÉTICO

1.3.1. Hipótesis nula

- El uso de hongos endófitos antagonistas no influye en el control de *Colletotrichum gloeosporioides* Penz.

1.3.2. Hipótesis alternativa

- Los hongos endófitos antagonistas influyen como agentes inhibidores en el control de la Antracnosis, (*Colletotrichum gloeosporioides* Penz)

1.4. MARCO TEÓRICO

1.4.1. EL CULTIVO DE TOMATE DE ÁRBOL

“Otros nombres: árbol tomate, palo de tomate, tomate arbóreo, lima tomate, tomate del campo, entre otros.”⁴.

“El tomate de árbol (*Solanum betaceum*), es originario de los Andes Suramericanos y se le encuentra en forma silvestre o cultivada desde Venezuela hasta Argentina en climas templados y fríos, en altitudes de 1500 a 2600 msnm y zonas con temperaturas entre 15 y 22°C [...]”¹⁵.

“El tomate de árbol es un cultivo rentable y de grandes oportunidades para la agroindustria nacional y el mercado internacional, cuyo crecimiento está limitado por la presencia especialmente del ojo de pollo que puede terminar con la plantación [...]”²⁴.

En el período de lluvias la incidencia de enfermedades es mayor mientras que durante la época seca las plagas son el mayor problema. Sin embargo dichos problemas son superables mediante un conjunto de prácticas agrícolas que incluyan métodos de manejo y controles adecuados [...]”_Idem-

⁴Enciclopedia Práctica de la agricultura y la Ganadería, Editorial grupo Océano, 2002, p. 717.¹⁵Cultivo de tomate de árbol, 2010; http://sian.inia.gov.ve/repositorio/revistas_tec/ceniaphoy/articulos/n9/arti/aponte_a/arti/aponte_a.htm²⁴El INIAP identifica un material de tomate resistente a la enfermedad ojo de pollo, 2010;<http://www.dicyt.com/noticias/el-iniap-identifica-un-material-de-tomate-resistente-a-la-enfermedad-ojo-de-pollo>

“En el Ecuador se ha desarrollado la explotación de frutales andinos, de ellos sobresale el tomate de árbol (*Solanum betaceum*). En los últimos 15 años el cultivo de esta especie ha crecido. El libre comercio en el Pacto Andino y en general a nivel mundial, así como la expectativa en mercados de Europa han abierto algunas perspectivas de crecimiento, desarrollo y exportación de frutos andinos, principalmente de tomate de árbol, mismo que por su alta rentabilidad, en pequeñas áreas ha dado oportunidad de sustento a muchas familias ecuatorianas[...]”.⁴³

“Pero en realidad la expectativa de exportación del tomate de árbol se enfoca actualmente hacia Europa y Estados Unidos entre otros países, debido a la creciente demanda de la fruta que ya se ha hecho conocida por sus características de alto valor nutricional y medicinal, por ello se debe enfocar el cultivo de acuerdo con la demanda del mercado externo, mismo que exige conceptos de calidad alimentaria, es decir cumplir con las normas tanto en residuos de pesticidas como en la calidad física del producto[...]”.²⁵

⁴³Tecnología del cultivo de tomate de árbol, 2010; http://www.sica.gov.ec/agronegocios/productos%20para%20invertir/frutas/tomate%20arbol/tecnologia_%20cultivo.htm²⁵El tomate de árbol, 2010; http://mail.iniapecuador.gov.ec/isis/view_detail.php?mfn=4949&qtype=search&dbinfo=PADIPR&words=OJO%20DE%20POLLO

1.4.1.1. Taxonomía

Reino:	<i>Plantae</i>
División:	<i>Angiosperma</i>
Clase:	<i>Magnoliopsida</i>
Subclase:	<i>Asteridae</i>
Orden:	<i>Solanales</i>
Familia:	<i>Solanaceae</i>
Género:	<i>Solanum</i>
Especie:	<i>Solanum betaceum</i>
Nombre binominal	<i>Solanum betaceum</i>
Ecotipos:	Común, amarillo puntón, alargado morado y anaranjado, redondo colombiano, tomate mora.

Cuadro 1: Taxonomía del tomate de árbol (*Solanum betaceum*)

1.4.1.2. Descripción botánica

“Es un árbol pequeño que puede alcanzar 3 m de altura, de ciclo productivo corto (2 a 4 años) [...]”¹⁵.-Op.Cit.-

“De tallo más o menos recto, poco leñoso, pubescente, con corteza lisa y manchas claras. De copa irregular, poco densa”²⁷.

¹⁵http://sian.inia.gob.ve/repositorio/revistas_tec/ceniaphoy/articulos/n9/arti/aponte_a/arti/aponte_a.htm - Op.Cit.-

²⁷El tomate de árbol (*Solanum betaceum*), 2010; http://www.freshplaza.es/news_detail.asp?id=36068

“Sus hojas son grandes, sencillas, alternas, acorazonadas, de 20 a 35 cm de largo, acuminadas en el ápice. De pecíolos largos. Las hojas inferiores del tallo con frecuencia profundamente lobuladas o cortadas”²⁷.-Op.Cit.-

“Sus flores son blancas, fragantes, teñidas de morado a rosado, agrupadas en racimos axilares pedunculados, de 1 a 1,5 cm de largo. Cáliz con 5 dientes agudos. Corola con 5 pétalos largos. Suelen estar presentes simultáneamente con la fructificación” -Idem-.

“El fruto mide de 8-12 cm de largo por 4-6 cm de ancho, de textura firme, piel lisa y brillante, de color variable desde rojo, anaranjado, morado, hasta amarillo, comúnmente de forma elipsoide a ovoide, pulpa anaranjada a roja, jugosa y de sabor agridulce”¹⁹.

1.4.1.3. Requerimientos del cultivo

1.4.1.3.1. Luminosidad o Radiación

“La luz solar es un pre-requisito para el crecimiento de la planta. El crecimiento es producido por el proceso de fotosíntesis, el cual se da sólo cuando la luz es absorbida por la clorofila (pigmento verde) en las partes verdes de la planta mayormente ubicadas en las hojas”³⁵.

²⁷http://www.freshplaza.es/news_detail.asp?id=36068¹⁹Cultivo de tomate de árbol, 2010; <http://www.saber.ula.ve/bitstream/123456789/24321/2/articulo1.pdf>³⁵Manual Del Cultivo De Tomate por Boris Corpeño,2004;http://www.fintrac.com/docs/elsalvador/Manual_del_Cutivo_de_Tomate_^{WEB}.pdf

“El tomate es un cultivo que no lo afecta el fotoperiodo, sus necesidades de luz oscilan entre las 8 y 16 horas; aunque requiere buena iluminación. Los días soleados y sin interferencia de nubes, estimulan el crecimiento y desarrollo normal del cultivo [...]”³⁵-Op.Cit.-

1.4.1.3.2. Temperatura

“La temperatura del aire es el principal componente del ambiente que influye en el crecimiento vegetativo, desarrollo de racimos florales, el cuaje de frutos, desarrollo de frutos, maduración de los frutos y la calidad de los frutos. Los rangos para un desarrollo óptimo del cultivo oscilan entre los 28 - 30° C durante el día y 15 - 18° C durante la noche. Temperaturas de más de 35° C y menos de 10° C durante la floración provocan caída de flor y limitan el cuajado del fruto, aunque puede haber diferencias entre cultivares [...]”-Idem-.

1.4.1.3.3. Humedad Relativa

La humedad relativa óptima para el cultivo de tomate oscila entre 65 - 70 %; dentro de este rango se favorece el desarrollo normal de la polinización, garantizando así una buena producción; ya que por ejemplo, si tenemos condiciones de baja humedad relativa (de 45%) la tasa de transpiración de la planta crece, lo que puede acarrear estrés hídrico, cierre estomático y reducción de fotosíntesis, afectando directamente la polinización especialmente en la fase de fructificación cuando la actividad radicular es menor.²²

“Valores extremos de humedad reducen el cuajado de los frutos; valores muy altos, especialmente con baja iluminación, reducen la viabilidad del polen, y puede limitar la evapotranspiración (ET), reducir la absorción de agua y nutrientes y generar déficit de elementos como el calcio, induciendo desórdenes fisiológicos (podredumbre apical del fruto), además esta condición es muy favorable para el desarrollo de enfermedades fungosas [...]”.³⁵-Op.Cit.-

³⁵http://www.fintrac.com/docs/elsalvador/Manual_del_Cultivo_de_Tomate_WEB.pdf -Op.Cit.-

²²Cultivo de tomate *Solanum betaceum* <http://articulos.infojardin.com/Frutales/fichas/arbol-de-tomates-tomate-arboreo-tamarillos-tomates-arbol.htm>

1.4.1.3.4. Suelos

“El suelo provee cuatro necesidades básicas de las plantas: agua, nutrientes, oxígeno y soporte. Se considera que un suelo ideal debe tener las siguientes condiciones: 45% de

minerales, 5% de materia orgánica, 25% de agua y 25% de aire o espacio poroso [...]”³⁵-Op.Cit.-

“Los suelos aptos para cultivar tomate son los de media a mucha fertilidad, profundos y bien drenados, pudiendo ser franco-arenosos, arcillo-arenosos y orgánicos. El pH del suelo tiene que estar dentro de un rango de 5.9-6.5, para tener el mejor aprovechamiento de los fertilizantes que se apliquen”-Idem-.

1.4.1.4. Propagación del tomate

“El tomate de árbol se puede propagar sexualmente (por semillas), mediante el establecimiento de semilleros y asexualmente (vegetativamente), mediante la obtención de estacas, acodos, ramas o injertos”⁴⁴.

“Para la obtención de la semilla, y posteriormente, de las plántulas, se deben seguir los siguientes pasos:

- Selección de la planta madre, que sea sana y vigorosa, con frutos maduros y en buen estado.
- Extracción y lavado de semillas; para el lavado se puede utilizar una malla fina de alambre”-Idem-.

³⁵http://www.fintrac.com/docs/elsalvador/Manual_del_Cutivo_de_Tomate_WEB.pdf -Op.Cit.-

⁴⁴Tomate de árbol, 2010; <http://www.ceaecuador.org/imagesFTP/4789/tomate%20de%20arbol%20plagas%20y%20enfermedades%20SICA.htm>

- “Secado de las semillas a la sombra, durante uno a dos días.

- Siembra (en el semillero) a chorro continuo en líneas separadas a 5 cm. La germinación de las semillas ocurre aproximadamente a las cinco semanas”⁴⁴-Op.Cit.-

1.4.1.5. Transplante

El transplante se realiza en fundas de polietileno, de color negro. La mezcla debe encontrarse desinfectada, y con las siguientes proporciones: dos partes de suelo negro, rico en materia orgánica; y, una parte de cascajo o cascarilla de arroz. Después de trasplantar las plantas deben permanecer a media sombra de tres a cuatro semanas, para su aclimatación, antes de ir a la plantación definitiva-Idem-.

1.4.1.6. Sistema de plantación

“Con dos meses de anticipación se debe preparar el terreno a ser plantado, con labores normales de arado y rastra; los hoyos, en los que se siembra la planta, deben ser de 40 x 40 cm”-Idem-.

Para reducir la posibilidad de desarrollo de los patógenos principalmente de antracnosis (ojo de pollo), se deben cambiar los esquemas de plantación; se recomiendan dobles hileras en 3 bolillo a 2 m de distancia entre plantas, separadas por callejones de 3 a 3.5 m, con ello se mejorara la circulación de aire y se hace más eficiente el aprovechamiento de la luz, facilitando además las labores de manejo del cultivo.⁴³-Op.Cit.-

⁴⁴<http://www.ceaecuador.org/imagesFTP/4789/tomate%20de%20arbol%20plagas%20y%20emfermedades%20SICA.htm>-Op.Cit.-

⁴³http://www.sica.gov.ec/agronegocios/productos%20para%20invertir/frutas/tomate%20arbol/tecnologia_%20cultivo.htm-Op.Cit.-

“En el fondo de cada hoyo se deposita una mezcla de 3 kg de gallinaza descompuesta o compuesta, más 60 g de fertilizante químico 8-20-20 o 10-30-10. Luego, poniendo una capa de tierra sobre la mezcla, se colocan las plantas de tomate de árbol”.⁴⁴-Op.Cit.-

1.4.1.7.Labores culturales.

1.4.1.7.1. Podas

“Es una práctica común en cultivares de mesa de crecimiento indeterminado y consiste en la eliminación de los brotes de crecimiento nuevos, para manejar solo los brotes seleccionados, dejando 2 ó 3 ejes principales; en algunos casos se acostumbra podar flores y frutos con el objetivo de uniformizar el tamaño de los frutos y que éstos ganen peso”.³⁵-Op.Cit.-

“También la poda puede realizarse para eliminar hojas dañadas por enfermedades, a esta poda se le llama poda sanitaria”-Idem-.

1.4.1.7.2.Deshierbas

“Las deshierbas se realizan en forma manual a lo largo de la corona de cada planta, se puede utilizar un azadón entre las calles. También se puede realizar en forma mecanizada. [...]”.⁴²

⁴²Manejo del cultivo de tomate de árbol 2008 [http:// www.sica.gov.ec.cultivotomatedearbol.blogspot.com/](http://www.sica.gov.ec.cultivotomatedearbol.blogspot.com/)

³⁵http://www.fintrac.com/docs/elsalvador/Manual_del_Cutivo_de_Tomate_ WEB.pdf -Op.Cit.-

1.4.1.7.3.Riegos

“Los sistemas de riego más utilizados son mediante surcos paralelos, en zig-zag o serpentin y por coronas individuales. La frecuencia del riego depende de las condiciones climáticas existentes; por lo general, la frecuencia será cada 10 a 15 días”.⁴⁴-Op.Cit.-

1.4.1.7.4.Fertilización

“La fertilización se realiza cada seis meses haciendo uso de 2 ó 3 kg. de gallinaza o compuesto, más 80 g de fertilizante químico 8-20-20 ó 10-30-10- la aplicación se debe hacer en la corona de cada planta”-Idem-.

“Una recomendación general es aplicar 250-150-200-30 Kg/ha/año de N-P₂O₅-K₂O y S, respectivamente, que se cubre con.”⁶

- “6,5 sacos de 18-46-0

- 5,5 sacos de muriato de potasio

- 3 sacos de sulphomag, y 8 sacos de urea. [...]”-Idem-.

⁴⁴<http://www.ceaecuador.org/imagesFTP/4789/tomate%20de%20arbol%20plagas%20y%20emfermedades%20SICA.htm> -Op.Cit.-⁶Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias INIAP, Guía de Cultivos, Octubre, 1999 Quito-Ecuador, p. 160.

1.4.1.7.5. Limpieza del área

“Consiste nada más en tener los alrededores del cultivo limpio de malezas, ya que estas son hospederos de plagas y enfermedades que afectan al cultivo [...]”.⁴-Op.Cit.-

1.4.1.7.6. Tutoreo

“El hoyado y colocación de los tutores se realiza inmediatamente después del trasplante; los tutores deben medir 2.5 metros o más dependiendo de la altura de la variedad y deben colocarse con un distanciamiento de 3 metros entre cada uno. Las plantas se sostienen con hileras de alambre, las cuales deben colocarse según el crecimiento de la planta cada 30 centímetros, es importante que las guías se vayan ordenando para evitar su caída [...]”-Idem-.

1.4.1.7.7. Aporque

“Se recomienda hacerlo a los 15 o 25 días después del trasplante, para favorecer el desarrollo de raíces en el tallo [...]. Debe realizarse con precaución, para no causar daño a las raíces dar paso a las enfermedades. Además con esta labor se incentiva a la planta a generar raíces adventicias”.⁶-Op.Cit.-

1.4.1.7.8. Mantenimiento de camas

“Es necesario mantener siempre las camas altas y que no pierdan la forma durante el laboreo de las parcela”-Idem-.

1.4.1.7.9. Mantenimiento de drenes

“Actividad indispensable durante la época lluviosa, para evitar encharcamientos que puedan afectar el desarrollo del cultivo”-Idem-.

⁴Enciclopedia Práctica de la agricultura y la Ganadería, 1178-Op.Cit.-⁶Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias, 160. INIAP, p. 5. -Op.Cit.-

1.4.1.8. Composición química del fruto

Es un fruto con una fuente importante de beta caroteno (provitamina A), vitamina B6, vitamina C (ácido ascórbico), vitamina E y hierro. También posee contenidos altos de potasio, magnesio y fósforo. Se ha reportado en *Solanum betaceum* dos alcaloides esteroidales del tipo de los espirosolanos, solasodina y tomatidenol, siendo los que mayor atención han recibido como fuentes alternativas de esteroides de interés farmacéutico.¹⁶

1.4.1.9. Consumo

“Se tiene que consumir maduro, cortado por la mitad y con cuchara. Se puede comer en ensalada pelado, cortado y en dados. Su carne muy jugosa, permite preparar excelentes zumos. Se recomienda pelarlo, ya que el sabor de la piel es algo amarga, para pelarlo introducirlo en agua caliente ayuda bastante”.³⁶

1.4.1.10. Propiedades y beneficios del tomate de árbol

“El Tomate de Árbol es un buen generador de vitamina A, B, E y C, indicado por tanto para todas aquellas personas con déficit de estas vitaminas o estados carenciales de su organismo”-Idem-.

“Es muy consumido por ello por personas que no toleran los cítricos o el pimiento u otros vegetales”-Idem-.

“Tiene abundancia de fibras con lo que ayuda a las funciones intestinales”-Idem-.

“Las hojas, previamente calentadas ó soasadas, se aplican en forma tópica contra la inflamación de amígdalas. Para la gripe, se consume el fruto fresco en ayunas, dado su alto contenido de ácido ascórbico. Otra propiedad atribuida es como remedio de problemas hepáticos”.¹⁶-Op.Cit.-

¹⁶Cultivo de tomate de árbol (*Solanum betaceum*), 2009 <http://www.mag.go.cr/bibliotecavirtual/a00168.PDF>

³⁶Manejo del tomate de árbol, 2010, <http://www.tomatearbol.com/Tomate-de-Arbol/2>

1.4.1.11. Conservación de tomate de árbol

“El Tomate de Árbol se utiliza como zumo tropical, pero también es frecuentemente usado en: macedonias, ensaladas, helados, mermeladas, jaleas”.³⁶-Op.Cit.-

1.4.1.12. Cosecha

“Si el tomate se va a utilizar para consumo inmediato o industrial, los frutos se pueden cosechar hasta que estén completamente maduros. Pero si el producto va a ser transportado largas distancias, la cosecha deberá hacerse cuando los frutos inician su maduración o estén pintones, con el cuidado de eliminarles el pedúnculo”.⁴⁵

“La madurez para cosecha se define en términos de la estructura interna del fruto, las semillas están completamente desarrolladas y no se cortan al rebanar el fruto. El estado verde maduro es cuando ha logrado su máximo desarrollo y tiene un color verde brillante, ligeramente cremoso o blanquecino en la región apical [...]”-Idem-.

1.4.1.13. Postcosecha

“El tomate ya cosechado debe manejarse con mucho cuidado, de preferencia trasladarlo en cajas de madera, con capacidad de 50-55 libras, clasificados de acuerdo a tamaño, forma, sanidad y madurez. Debe ser ubicado en un sitio fresco y a la sombra. No lavarlo antes de su comercialización”.³⁵-Op.Cit.-

³⁶<http://www.tomatearbol.com/Tomate-de-Arbol/2-Op.Cit.->⁴⁵Tomate de árbol, 2010;

<http://www.angelfire.com/ia2/ingenieriaagricola/cosechas.htm>³⁵[http://www.fintrac.com/docs/elsalvador/Manual_del_Cutivo_de_Tomate_](http://www.fintrac.com/docs/elsalvador/Manual_del_Cutivo_de_Tomate_WEB.pdf)^{WEB}.pdf-Op.Cit.-

“El tomate verde maduro se almacena bien entre 10°-12° C, pudiendo mantenerse en estas condiciones por 30 días. No se recomienda almacenar el tomate verde maduro o pintón a temperaturas menores de 10° C. porque sufre daño por frío [...]”³⁵-Op.Cit.-

“El tomate maduro o próximo a este estado, puede almacenarse entre 2°-4° C y mantenerse por 20 días. En el caso del tomate verde maduro, la pudrición aumenta si se almacena más de dos semanas a esta temperatura; después de alcanzar el estado maduro firme la vida de anaquel es generalmente de 8 a 10 días si se aplica una temperatura dentro del intervalo de temperatura donde se mantienen hasta que los frutos se tornen rojos, en este cuarto de maduración la humedad relativa debe ser del 90 al 95%; cuando se quiere acelerar el proceso se recomienda gasificar el producto con etileno [...]”-Idem-.

“En conclusión, las temperaturas óptimas de almacenamiento son:

- Verde maduro → 10° a 12°C
- Rojo claro → 10° a 12.5°C
- Maduro Firme → 7° a 10°C (3 a 5 días)”-Idem-.

1.4.2. FITOPATOLOGÍA DEL TOMATE DE ÁRBOL

1.4.2.1. Principales enfermedades producidas por hongos

1.4.2.1.1. Damping-off

“Desde la siembra al trasplante ocurren a menudo graves daños por hongos del suelo, consistentes en la no emergencia o muerte post-emergencia de las plántulas. Se les denomina fallos de nascencia cuando el ataque es anterior a la emergencia”²⁸.

³⁵http://www.fintrac.com/docs/elsalvador/Manual_del_Cutivo_de_Tomate_WEB.pdf-Op.Cit.-

²⁸Enfermedades del tomate de árbol, 2010; <http://html.rincondelvago.com/plagas-y-enfermedades-en-el-cultivo-del-tomate.html>

“Entre los hongos más frecuentes podemos citar: *Pythium*, *Rhizoctonia solani*, *Alternaria solani*, *Botrytis cinerea*, *Phytophthora* (varias especies) y *Sclerotinia sclerotiorum*[...]”.³¹

“La evolución de la enfermedad suele ser rápida y puede llegar a partir de turbas y sustratos contaminados, aguas de riego o arrastrada por el viento cargado de partículas de tierra”-Idem-.

Prácticas de control de la enfermedad

Utilización de semillas y plántulas sanas; sustratos con garantía de sanidad; bandejas, herramientas, estructuras desinfectadas y evitando el contacto de estas con el suelo; utilización de estiércol bien fermentado; agua de riego exenta de estos patógenos; siembra/plantación poco densa y poco profunda; evitar encharcamientos en suelo o sustrato y temperaturas bajas.-Idem-.

Control químico:“El tratamiento a realizar dependerá del hongo que actúe. La aplicación se realizará alrededor del cuello de la planta. Entre las materias activas de posible uso tenemos: metalaxil, benomilo, captan, clortalonil, dicloran, etc.” -Idem-.

1.4.2.1.2. Podredumbres de cuello y raíces, causadas por *Fusarium oxysporum .sp. radicis-lycopersici*

“Se manifiesta por marchitez general y amarillamiento de hojas. En raíces se observa podredumbre de color marrón o "chocolate". En el cuello en ocasiones se observa chancro oscuro [...]”-Idem-.

³¹Enfermedades del tomate de árbol, 2010; <http://www.biologia.edu.ar/microind/enfermedades%20B3n.htm>

Control biológico:“se está investigando el hongo *Trichoderma harzianun*” .²⁸-Op.Cit.-

Control químico:“poco eficaces, los tratamientos químicos, costosos. Implican desinfecciones del suelo, tratamientos a la estructura del invernadero, etc.”[...] -Idem-.

1.4.2.1.3. Oídium, causado por *Oidium sp.*

“Esta enfermedad se presenta cuando existe alta humedad ambiental; ataca a ramas, hojas y frutos. Cuando está presente se observa la presencia de un polvo blanquecino en las áreas infectadas”.²⁶

Control químico:“Para su control se puede utilizar productos a base de azufre como Tiovit, Kumulus o Cosan, a razón de 1.5 g/L de agua” -Idem-.

1.4.2.1.4. Esclerotiniosis o Podredumbre blanca, causada por *Sclerotinia sclerotiorum*

“En plántulas produce "Damping-off"; en planta adulta produce una podredumbre blanda que no desprende mal olor y acuosa al principio que posteriormente se seca más o menos y que se recubre de un micelio algodonoso blanco. Existe un mayor riesgo de infección cuando hay floració”.²⁸-Op.Cit.-

²⁸<http://html.rincondelvago.com/plagas-y-enfermedades-en-el-cultivo-del-tomate.html>-Op.Cit.-

²⁶El cultivo orgánico de tomate de árbol, 2010; <http://cultivotomatedearbol.blogspot.com/>

Prácticas de control de la enfermedad

“Manejo adecuado de ventilación y riego. Se eliminarán restos de cultivo y plantas enfermas. También se eliminarán malas hierbas. Se realizará la solarización [...]”²⁸-Op.Cit.-

Control biológico: “hongos del género *Trichoderma* presentan un prometedor empleo como agentes de control biológico. También bacterias del género *Bacillus*, etc. aún no se aplican de forma comercial”-Idem-.

Control químico: “Entre las materias activas de posible uso tenemos: captan+tiabendazol, dicloran, tebuconazol, etc.[...]”-Idem-.

1.4.2.1.5. Mildiu del tomate, causado por *Phytophthora infestans*

“En hojas aparecen manchas irregulares de aspecto aceitoso al principio que rápidamente se necrosan. En tallo aparecen manchas pardas que se van agrandando y que suelen circundarlo. Afecta a frutos inmaduros manifestándose como grandes manchas pardas [...]”⁷

²⁸<http://html.rincondelvago.com/plagas-y-enfermedades-en-el-cultivo-del-tomate.html>-Op.Cit.-⁷Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias, Estación Experimental Santa Catalina Departamento Nacional de Protección Vegetal, Enfermedades, nematodos e insectos plagas del tomate de árbol, Quito-Ecuador 2008, p. 7.

Prácticas de control de la enfermedad

“La ventilación evitará las condiciones ambientales favorecedoras del desarrollo de la enfermedad, eliminar plantas y frutos enfermos, utilizar plántulas sanas”⁷.-Op.Cit.-

Control químico: preventivos y curativos/Sistémicos o penetrantes y contacto:“Clortalonil+metalaxil, cimoxanilo+zineb, cimoxanil+propineb,metalaxil, metalaxil+oxicloruro de cobre, etc.”⁷ -Idem-.

1.4.2.1.6. Mancha negra del tronco, causada por *Fusarium solani*

“Inicialmente se presenta como lesiones necróticas de coloración parda en la corteza de la parte media de los troncos o en la bifurcación de la ramas gruesas y luego como manchas extensivas de color negro brillante. Más tarde según la edad de la lesión y de las condiciones ambientales, estas se cubren de un polvillo habano y evolucionan a hundimientos y grietas del tejido de la corteza del tronco, generalmente cuando los arboles inician la etapa de floración [...]” -Idem-.

“Puede provocar la rotura del tronco o de la rama afectada. Cuando ataca cerca del cuello, la enfermedad avanza hacia las raíces, emanando un fuerte olor a descomposición desagradable y provocando el marchitamiento de la planta”-Idem

⁷Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias, Estación Experimental Santa Catalina Departamento Nacional de Protección Vegetal. -Op.Cit.-, p. 7.

Control químico: Mediante aspersiones foliares de fungicidas a base cobre como Cuprofix (mancozeb + caldo bordeles), en dosis de 3g/l.[...]⁷

1.4.2.1.7. Alternariosis del tomate, causada por *Alternaria solani*

“En hojas se producen manchas pequeñas circulares presentando a veces halo amarillo llegando a secar el foliolo. En tallos y peciolo se producen lesiones negras alargadas observándose a veces anillos concéntricos. Los frutos presentan lesiones pardo oscuras y recubiertas de numerosas esporas del hongo. Las fuentes de infección pueden ser semillas infectadas, restos de plantas enfermas, etc. [...].²⁸-Op.Cit.-

Prácticas de control de la enfermedad

“Utilizar semillas y plántula sanas, destruir frutos y plantas afectadas por la enfermedad, controlar la humedad ambiental del invernadero, abonado equilibrado, destruir restos de cosecha de cara al cultivo siguiente”-Idem.-

Control químico: Captan, captan+tiabendazol, clortalonil, hidróxido cúprico, mancozeb, etc.[...]-Idem.-

⁷Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias, Estación Experimental Santa Catalina Departamento Nacional de Protección Vegetal.-Op.Cit.-
, p.7.²⁸<http://html.rincondelvago.com/plagas-y-enfermedades-en-el-cultivo-del-tomate.html>-Op.Cit.-

1.4.2.2. Principales enfermedades causadas por bacterias

1.4.2.2.1. Chancro bacteriano del tomate, causado por *Clavibacter michiganensis* sp.

“Puede afectar a plántulas que presentan síntomas de marchitez y muerte. En plantas adultas se marchitan las hojas inferiores. El tallo, en ocasiones se observan chancros oscuros, longitudinales y abiertos que pueden exudar un líquido amarillo al realizar un corte longitudinal al tallo. En fruto, aparecen manchas en forma de "ojo de pájaro" de 3 a 6 mm de diámetro, con el centro oscuro y halo amarillo[...]”.²⁸-Op.Cit.-

Prácticas de control de la enfermedad

“Utilizar semilla sana y certificada, destruir plantas enfermas y restos de cultivos, desinfección de las herramientas de trabajo”-Idem-.

“Al ser una enfermedad vascular no hay tratamiento químico capaz de curar plantas enfermas”-Idem-.

1.4.2.2.2. Marchitez Bacterial, causada por *Pseudomonas solanacearum*

“Comienza con la caída de las hojas basales, seguido por la marchitez total de la planta. Al cortar el tallo este exuda un líquido gris gelatinoso cuando se pone en agua. Al cortar un tallo a lo largo se observa internamente una decoloración vascular que va de amarillo a café claro que luego se oscurece o se ahueca a medida que avanza la enfermedad. [...]”.³⁵-Op.Cit.-

²⁸<http://html.rincondelvago.com/plagas-y-enfermedades-en-el-cultivo-del-tomate.html>-Op.Cit.-

³⁵http://www.fintrac.com/docs/elsalvador/Manual_del_Cutivo_de_Tomate_WEB.pdf-Op.Cit.-

La infección se da en las raíces a través de lesiones naturales causadas por el desarrollo de raíces secundarias, lesiones producidas por trasplante, prácticas de cultivo o daño por alimentación de nematodos e insectos [...]”³⁵.-Op.Cit.-

1.4.2.2.3. Podredumbres blandas, causadas por *Erwinia carotovora* sp.

Penetra por heridas, provocando generalmente podredumbres acuosas, blandas que suelen desprender olor nauseabundo. En tomate se observa exteriormente en el tallo manchas negruzcas y húmedas. En general, la planta suele morir. Las condiciones favorables para el desarrollo de la enfermedad son altas humedades relativas y temperaturas entre 25 y 35°C²⁸.-Op.Cit.-

Prácticas de control de la enfermedad

“Utilizar semillas sanas, evitar heridas de poda, eliminar plantas y frutos enfermos, desinfectar los aperos con dilución de lejía al 20 %, buena ventilación del invernadero, marco de plantación que permita buena ventilación, no abonar en exceso con N, eliminar malas hierbas, etc.”-Idem-

1.4.2.3. Principales enfermedades causadas por virus

1.4.2.3.1. Virus del bronceado del tomate(TSWV)

“Produce enanismo y producción nula o escasa; a veces las plantas mueren, generalmente se producen en hojas bronceado con puntos y manchas necróticas que a veces afectan a los peciolo y tallos; en frutos aparecen manchas, maduración irregular, deformaciones y necrosis; se transmite por trips”²⁹.

³⁵http://www.fintrac.com/docs/elsalvador/Manual_del_Cutivo_de_Tomate_Web.pdf-Op.Cit.-

²⁸<http://html.rincondelvago.com/plagas-y-enfermedades-en-el-cultivo-del-tomate.html>-Op.Cit.-

²⁹Enfermedades de los tomates, 2010; <http://articulos.infojardin.com/huerto/Fichas/tomate/enfermedades.htm>

1.4.2.3.2. Virus del mosaico del pepino (CMV)

“Debido a la gran variabilidad genética, los síntomas producidos por diferentes cepas de virus pueden ser distintos. En tomate, las cepas comunes de CMV producen síntomas de mosaicos foliares en forma de manchas de color verde claro-verde oscuro. La transmisión se realiza por pulgones”²⁹.-Op.Cit.-

“La transmisión se realiza por más de 75 especies de pulgones entre los que destaca *Myzus persicae*, *aphis fabae*, etc. Puede ser transmitido por la semilla de algunas especies pero no por las de tomate”-Idem.-

1.4.2.3.3. Virus del rizado amarillo del tomate (TYLV)

“En plantas pequeñas se produce parada del crecimiento; en planta desarrollada, los foliolos son de tamaño reducido. En los frutos no se observan síntomas, solo una reducción de tamaño; el único vector conocido es la mosca blanca: *Bemisia tabaci*”²⁸. - Op.Cit.-

Prácticas de control de la enfermedad

“Eliminación de malas hierbas, protección de semilleros para evitar contaminaciones precoces, usar variedades resistentes, control del vector, eliminación de plantas afectadas”-Idem-

²⁹<http://articulos.infojardin.com/huerto/Fichas/tomateenfermedades.htm>.-Op.Cit.-

²⁸<http://html.rincondelvago.com/plagas-y-enfermedades-en-el-cultivo-del-tomate.html>-Op.Cit.-

1.4.2.3.4. Virus del mosaico del tomate

“En las hojas de tomate se observa un mosaico verde claro-verde oscuro. Los frutos aparecen con deformaciones, manchas generalmente amarillas y a veces maduración irregular. La transmisión se realiza por semillas y mecánicamente por contacto de manos, herramientas, etc. [...]”²⁸. -Op.Cit.-

Prácticas de control de la enfermedad

“Inmersión de las semillas en solución de fosfato sódico al 10 % durante 15 min. y posteriormente en hipoclorito sódico al 0,525 % durante 30 min., utilización de variedades resistentes, desinfección de suelo, manos y útiles de trabajo, termoterapia de las semillas con calor seco durante 24 horas a 80° C.[...]”-Idem.-

1.4.2.4. Principales plagas que afectan al cultivo

1.4.2.4.1. Pulgones (*Myziis sp.*)

“Se ubican preferentemente en las zonas terminales de brotes tiernos y en el envés de las hojas jóvenes. Poseen un aparato bucal picador-chupador, con lo cual, se alimentan de los nutrientes elaborados por la planta. Pueden ser vectores de virus”⁴⁴. -Op.Cit.-

²⁸<http://html.rincondelvago.com/plagas-y-enfermedades-en-el-cultivo-del-tomate.html>-Op.Cit.-

⁴⁴<http://www.ceaecuador.org/imagesFTP/4789/tomate%20de%20arbol%20plagas%20y%20emfermedades%20SICA.htm>-Op.Cit.-

“Para su control, ventajosamente se cuenta con la presencia de un sinnúmero de enemigos naturales, los cuales, atacan a la plaga durante todos sus estados de desarrollo. Entre ellos, encontramos avispidas que parasitan a las larvas, coccinélidos (mariquita), sínfilos y crisopas que se alimentan de los adultos[...]”⁴⁴-Op.Cit.-

“En el caso de ser extremadamente necesaria la aplicación de algún producto químico, se recomienda la utilización de insecticidas como azadirachtina (1 a 3 cm³ / 1/l de agua) o cipermetrina (3.5 cm³/10 l de agua)”-Idem-.

1.4.2.4.2.Crisomólidos.

“Son insectos de tamaño mediano, pertenecientes al orden *Coleoptera*, familia *Chrysomelidae*. Poseen un aparato bucal masticador, con el cual, se alimentan del follaje. Como consecuencia de su alimentación, se producen huecos en el follaje, disminuyendo la capacidad fotosintética de las hojas”-Idem-.

“Para su control se recomienda la eliminación de malezas hospederas (alrededor del cultivo) y la aplicación de insecticidas como azadirachtina (1 a 3 cm³/lit de agua)”-Idem-.

³⁵<http://www.ceaecuador.org/imagesFTP/4789/tomate%20de%20arbol%20plagas%20y%20emfermedades%20SICA.htm>-Op.Cit.-

1.4.2.4.3. Chinche o chinchorro (*Leptoglossus zonatus*).

“Posee un aparato bucal picador-chupador, de ahí que se alimenta de los nutrientes producidos por la planta; prefiere alimentarse de los frutos recién cuajados, ocasionando el endurecimiento de dicha zona [...]”.⁴⁴-Op.Cit.-

“Para su control se deben utilizar insecticidas de baja residualidad, para evitar contaminación de los frutos. Por ejemplo, diazinon (1 cm³/l de agua) o cipermetrina (3.5 cm³/10 L de agua) [...]”-Idem.-

1.4.2.4.4. Gusano trazador (*Agrotis sp.*)

“Es una larva de lepidóptero que en las épocas de sequía ocasionan graves daños en las plantaciones recién trasplantadas o después del control de malezas. Se alimentan de la base de los tallos produciendo el volcamiento de la planta”.⁷-Op.Cit.-

Control químico: “Aplicar en forma alternada, Pyrinox plus (Clorpirifos + cipermetrina), 1cm³/l, u Orthene 60 PM (acefato), 3g/l, con una frecuencia de 10-14 días [...]”-Ide.-

⁴⁴<http://www.ceaecuador.org/imagesFTP/4789/tomate%20de%20arbol%20plagas%20y%20emfermedades%20SICA.htm>.-Op.Cit.-⁷Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias, Estación Experimental Santa Catalina Departamento Nacional de Protección Vegetal. -Op.Cit.-, p. 27.

1.4.2.5. Principales enfermedades causadas por nematodos

1.4.2.5.1. Nudo de la raíz (*Meloidogine incognita*)

“Las raíces son severamente afectadas llegando la planta a morir después de la tercera cosecha (alrededor de 14 meses de edad), causando pérdidas de 90% en el rendimiento y 50% en la vida útil de la planta [...]”⁷-Op.Cit.-

El nematodo daña el sistema radicular de las plantas, formando abultamientos de diferente tamaño llamados nudos o agallas que impiden la absorción de agua y nutrientes del suelo. Las plantas afectadas lucen pequeñas, amarillentas y marchitas. [...]”-Idem-.

Prácticas de control de la enfermedad

“Rotación de cultivos. Aplicación de abonaduras orgánicas cada seis meses.

Control químico: Neem (*Azadirachtina*), 200g /m² al momento del transplante y posteriormente cada tres meses. [...]”-Idem-.

“A partir de la fase de fructificación es recomendable aplicar Mocap 10g. (ethoprop), 20g/planta, cada tres meses”-Idem-.

⁷Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias, Estación Experimental Santa Catalina Departamento Nacional de Protección Vegetal.-Op.Cit.-, p. 21.

1.5.LA ANTRACNOSIS

1.5.1. Generalidades

“La antracnosis es un síntoma de enfermedad de las plantas de zonas calurosas y húmedas, causada por un hongo que puede ser generalmente el *Colletotrichum* o el *Gloeosporium*”.¹⁰

“Entre los síntomas se encuentran unas manchas hundidas de diversos colores en las hojas, tallos, frutos o flores, que muchas veces derivan en el marchitamiento y muerte de los tejidos. Puede llegar a infectar varias plantas desde árboles hasta hierba”-Idem-.

“Es controlada mediante la destrucción de los tejidos vegetales afectados, usando semillas que aún no tienen el padecimiento o que son resistentes a este, aplicando fungicidas y/o confrontando a los insectos y parásitos que diseminan el hongo de la antracnosis de una planta a otra”-Idem-.

¹⁰Antracnosis 2010; <http://es.wikipedia.org/wiki/Antracnosis>

1.5.2. Hongos del género *Colletotrichum*

1.5.2.1. Generalidades del patógeno

El género *Colletotrichum* presenta un número diverso de especies que incluye los patógenos y los saprofitos. Las especies de este género son consideradas como las más exitosas dentro de los hongos patógenos de plantas y se presentan tanto en zonas templadas como tropicales. Este patógeno puede afectar gran parte de los tejidos, órganos de la planta en desarrollo, y frutos. Su capacidad para causar infecciones latentes o quiescentes lo ubican dentro de los patógenos de post cosecha más importantes.¹⁷

“Las enfermedades causadas por hongos del género *Colletotrichum* han sido encontradas en casi todos los países del mundo, ocasionando daños en muchas especies de frutales y especies vegetales”.³⁰

Colletotrichum presenta un micelio enramado inmerso, septado que toma coloración hialina hasta castaño pálido. Acérvulos separados o confluentes en forma de disco o cojín, seroso subepidermal, epidermal y subcuticular típicamente con setas o espinas negras en los bordes o entre los conidióforos, formado de pseudoparénquima con paredes delgadas o gruesas; conidióforos simples, conidias hialinas, ovoides u oblongadas-Idem-.

¹⁷Caracterización y pruebas de patogenicidad cruzada entre aislamiento de *Colletotrichum sp.* Obtenidos de frutos de lulo, tomate de árbol y flores de mora, con síntomas de antracnosis, 2006; <http://www.javeriana.edu.co/biblos/tesis/ciencias/tesis239.pdf>³⁰Estudios de la interacción biológica de microorganismos relacionados con *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.). Agente causal de la antracnosis en tomate de árbol (*Solanum betaceum.*), 2010; http://www.agronet.gov.co/www/docs_si2/20061127162055_Interaccion%20microorganismo%20antracnosis%20tomate%20de%20arbol.pdf

“Las setas presentes o ausentes, originadas irregularmente desde el pseudoparénquima, más o menos fuertes, no ramificadas, con un ápice agudo u obtuso, suaves y con una pared gruesa septada en algunos casos”³⁰-Op.Cit.-

“Los conidióforos septados, ramificados sobre la base de color castaño claro o hialino, formados de la parte superior de las células del pseudoparénquima son simples, cortos, erectos. Las conidias también son hialinas, aceptadas en forma cilíndrica, fusiforme, de una sola célula, que durante la germinación se torna de color castaño pálido, se septan y forman el apresorio. A menudo las esporas son tan numerosas que pueden formar masas brillantes de color rosado [...]”-Idem-.

Las formas de *Colletotrichum* tienen diferentes modelos de comportamiento en la naturaleza, variando de saprofito a cepas parasíticas especializadas con un estrecho rango de hospederos. Los conidios son producidos en masas mucilaginosas, a menudo rosadas, bastante conspicuas y típicamente hundidas, con un contorno irregular en las lesiones necróticas (denominadas antracnosis) sobre frutos hojas y tejidos.-Idem-.

“Algunas lesiones sobre frutos en desarrollo llegan a presentarse en relieve; como chancros, costras, cicatrices, o con forma de verruga en apariencia”-Idem-.

Algunas especies causan infecciones latentes sobre los frutos, que se desarrollan en lesiones de antracnosis durante la fase de maduración. Pero algunas lesiones surgen sin la presencia de un estado latente, cuando la infección toma lugar a través de una herida en el tejido del hospedero. Las especies generalmente sobreviven por largos periodos de tiempo sobre los desechos vegetales o sobre o dentro del suelo. El género patógeno más común en los trópicos es *Colletotrichum gloeosporioides* [...] -Idem-.

³⁰http://www.agronet.gov.co/www/docs_si2/20061127162055_Interaccion%20microorganismo%20antracnosis%20tomate%20de%20arbol.pdf-Op.Cit.-

1.5.2.2. Taxonomía del género *Colletotrichum*

“La identificación correcta de un organismo permite conocer los patrones de comportamiento de la especie o del grupo taxonómico [...]”.¹⁸

Estado anamorfo

Reino:	<i>Fungi</i>
Subdivisión:	<i>Deuteromycotina</i>
Clase:	<i>Deuteromycetes</i>
Orden:	<i>Melanconiales</i>
Género:	<i>Colletotrichum</i>

Cuadro 2: Estado anamorfo del género *Colletotrichum*

Estado telomorfo

Reino:	<i>Fungi</i>
Subdivisión:	<i>Acomycotina</i>
Clase:	<i>Pyrenomycetos</i>
Orden:	<i>Sphaeriales</i>
Género:	<i>Glomerella</i>

Cuadro 3: Estado telomorfo del género *Colletotrichum*

¹⁸Caracterización del agente causante de la antracnosis en tomate de árbol, manzano y mora, 2008; http://www.accefyn.org.co/revista/Vol_32/123/145-156.pdf¹⁶<http://www.javeriana.edu.co/biblos/tesis/ciencias/tesis239.pdf>-Op.Cit.-

“*Colletotrichum* presenta acérvulos en forma de disco o almohadilla, cerosos, subepidermales, típicamente color salmón, setas en el borde del acérvulo y entre los conidióforos conidias hialinas, unicelulares, ovoides u oblongas [...]”.³⁰-Op.Cit.-

La taxonomía de *Colletotrichum* es confusa, hay cerca de 900 especies descritas o asignadas a *Colletotrichum*. La identificación ha sido estudiada por sus características morfológicas, culturales, especialmente características conidiales, presencia de setas, esclerocios y forma de los apresorios. Las conidias pueden ser cilíndricas o elípticas. Los métodos tradicionales no han sido satisfactorios para diferenciar entre especies de *Colletotrichum*.-Idem-

“Estas características no han sido satisfactorias para la diferenciación de las especies del hongo, debido a factores como la plasticidad e inestabilidad de los rasgos morfológicos, la existencia de formas intermedias en la morfología, la superposición fenotípica, los efectos ambientales sobre los rasgos morfológicos[...].”¹⁸-Op.Cit.-

“Ahora se sugiere utilizar pruebas moleculares como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), análisis de ADN ribosomal; estos métodos han sido utilizados exitosamente para diferenciar poblaciones de *Colletotrichum*”-Idem-

1.5.2.3. Características biológicas del género *Colletotrichum*.

Colletotrichum, se encuentra en la naturaleza en su estado asexual (o fase conidial), produce unas estructuras en forma de disco, con un diámetro de 300 micras, en forma subepidermal en la lesión llamados acérvulos; estos cuerpos presentan varias espinas o setas con cuatro a nueve micras de diámetro y menos de 100 micras de longitud, los cuales están ubicados al borde o entre la masa de conidióforos simples y alargados; las conidias.-Idem-

³⁰http://www.agronet.gov.co/www/docs_si2/20061127162055_Interaccion%20microorganismo%20antracnosis%20tomate%20de%20arbol.pdf-Op.Cit.-¹⁸http://www.acefyn.org.co/revista/Vol_32/123/145-156.pdf-Op.Cit.-

1.5.3. ANTRACNOSIS CAUSADA POR EL HONGO *Colletotrichum gloeosporioides* Penz, EN TOMATE DE ÁRBOL *Solanum betaceun*

“La antracnosis del tomate de árbol causada por el hongo *Colletotrichum gloeosporioides* Penz., es la enfermedad más importante de las que afectan la fruticultura en el ámbito mundial y nacional, debido a la severidad de los daños que ocasiona, a la magnitud de las pérdidas que genera tanto en producción como en calidad de la cosecha y a la dificultad que se presenta para su control [...]”²³

“La antracnosis del fruto es la enfermedad más importante del cultivo, por su amplia distribución y por las pérdidas económicas que produce al destruir el producto a cosechar”.¹⁹

“Los costos de control de la enfermedad en tomate de árbol corresponden a un 45% de los costos totales de producción. A pesar del esfuerzo realizado por los productores, las pérdidas alcanzan hasta un 50% o más, debido exclusivamente a la severidad e intensidad del problema; esto sin tener en cuenta la contaminación ambiental, los daños ecológicos [...] que ocasiona el uso indiscriminado de fungicidas químico.[...]”.²³

“Siendo necesario profundizar los estudios sobre la interrelación biológica de algunos microorganismos con énfasis en organismos sinergistas de los cuales se tiene indicios que estimulen la germinación y formación de apresorios; así como de organismos antagonistas que pueden ser utilizados en un futuro en el manejo de la enfermedad.”.³⁰

²³Diagnóstico precoz de la antracnosis (*Colletotrichum gloeosporioides*) (Penz) Penz & Sacc. en tomate de árbol mediante el empleo de infecciones quiescentes, 2007; [http://agronomia.ucaldas.edu.co/downloads/agronomia15\(1\)_6.pdf](http://agronomia.ucaldas.edu.co/downloads/agronomia15(1)_6.pdf)

¹⁹Cultivo de tomate de árbol, 2010; <http://www.saber.ula.ve/bitstream/123456789/24321/2/articulo1.pdf>

³⁰http://www.agronet.gov.co/www/docs_si2/20061127162055_Interaccion%20microorganismo%20antracnosis%20tomate%20de%20arbol.pdf-Op.Cit.-

“El hongo que causa la antracnosis también afecta hojas y ramas, pero el daño más notorio se observa en los frutos, los cuales son afectados en todos sus estados de desarrollo”.²³-Op.Cit.-

1.5.3.1. Taxonomía del hongo *Colletotrichum*

Género:	<i>Colletotrichum</i>
Clase:	<i>Penz</i>
Especie:	<i>gloeosporioides</i>

Cuadro 4: Taxonomía de la Antracnosis causado por *Colletotrichum gloeosporioides* Penz”¹¹

“La demanda de alternativas para el manejo de la enfermedad ha creado la necesidad de realizar estudios básicos orientados hacia el diagnóstico y caracterización de las especies”.³⁰-Op.Cit.-

²³[http://agronomia.ucaldas.edu.co/downloads/agronomia15\(1\)_6.pdf](http://agronomia.ucaldas.edu.co/downloads/agronomia15(1)_6.pdf)-Op.Cit.-

¹¹Antracnosis en tomate de árbol 2010; <http://www.bayercropscience.com.pe/web/index.aspx?articulo=347>³⁰http://www.agronet.gov.co/www/docs_si2/20061127162055_Interaccion%20microorganismo%20antracnosis%20tomate%20de%20arbol.pdf-Op.Cit.-

1.5.3.2. Características

Las características que tipifican esta epidemia, evidencian varios aspectos; en primer lugar que la precipitación juega un papel definitivo en la infección y severidad del problema, segundo que los patios de infección en la planta son múltiples (frutos en todas las edades, estructuras reproductivas, hojas, brotes, pedúnculos, etc.), tercero que el inoculo efectivo incrementa rápida y fácilmente todo el tiempo, es altamente eficiente y presenta características de quiescencia, favoreciéndolo de condiciones adversas sin perder viabilidad, por un tiempo aun no determinado, pero de varias semanas; que las condiciones ecológicas y agronómicas del cultivo son ideales para la epidemia.³⁰-Op.Cit.-

“Esta enfermedad se presenta cuando las plantas se encuentran en pleno desarrollo vegetativo, la humedad ambiental alcanza un 95% y la temperatura es superior a 17 °C. [...]”²⁶-Op.Cit.-

1.5.3.3. Síntomas

“Se manifiestan con mayor frecuencia en el ápice o en los puntos en que varios frutos de una misma Inflorescencia quedan en contacto, debido a que allí se presenta acumulación de agua, por tiempo más largo, lo cual favorece el desarrollo inicial del hongo[...]”³⁰

En los frutos de cualquier edad, inicialmente se producen manchas circulares negras, hundidas, de bordes definidos, que aumentan rápidamente de tamaño y se tornan de consistencia seca, para luego cubrir casi todo el fruto y finalmente momificarse en la planta o caer al terreno. En condiciones de ambiente muy húmedo y precipitaciones continuas, se produce en el centro de la mancha una coloración rosada a salmón, que corresponde a las estructuras de reproducción del patógeno.¹⁵-Op.Cit.-

³⁰http://www.agronet.gov.co/www/docs_si2/20061127162055_Interaccion%20microorganismo%20antracnosis%20tomate%20de%20arbol.pdf-Op.Cit.-²⁶<http://cultivotomatedearbol.blogspot.com/>-Op.Cit.-

¹⁵http://sian.inia.gob.ve/repositorio/revistas_tec/ceniaphoy/articulos/n9/arti/aponte_a/arti/aponte_a.htm-Op.Cit.-

“También pueden aparecer a lo largo de las venas de las hojas unas manchas irregulares de color marrón claro correspondientes a tejido muerto. Las plantas afectadas tendrán el aspecto de haber sido quemadas por el sol”.¹²

1.5.3.4. Epidemiología

“Puede ser transportado de planta a planta y de cultivo a cultivo, de varias formas: por el viento, por la lluvia, o por el mismo agricultor [...]”-Idem-.

“También es diseminada por insectos perforadores de frutos, tales como: *Neoleucinodes elengantal* y *Leptoglossus suszonatus* Dallas, y también por algunas larvas de lepidópteros, que facilitan la entrada del hongo y predisponen el fruto a la infección por el patógeno [...]”.¹⁹-Op.Cit.-

“Las esporas son liberadas de los acérvulos solamente cuando hay una abundante humedad, y el salpicado de las gotas de lluvia es un medio común de diseminación”-Idem-.

“La severidad de la enfermedad está relacionada con las condiciones del medio ambiente, el hongo se inactiva en condiciones de clima seco, luz solar y temperaturas extremas (menor de 18°C o mayor de 28°C)”.¹¹-Op.Cit.-

¹²Antracnosis del tomate de árbol, 2008; <http://periodicoellabriego.com:8080/EILabriego/periodicoService?task=fileView&columnId=202>

¹⁹<http://www.saber.ula.ve/bitstream/123456789/24321/2/articulo1.pdf>-Op.Cit.-

¹¹<http://www.bayercropscience.com.pe/web/index.aspx?articulo=347>-Op.Cit.-

1.5.3.5. Nutrición del patógeno

“*Colletotrichum gloeosporioides* es un microorganismo que en la naturaleza vive de la materia orgánica y en ocasiones especiales tiene la capacidad de volverse patógeno, prefiriendo atacar tejidos muy jóvenes o tejidos muy viejos y físicamente débiles. Los ataques más severos a los frutos ocurren cuando coinciden el estado más susceptible del cultivo (floración, fructificación) con un tiempo lluvioso y días de permanente humedad relativa, mayor del 90%[...]”²³-Op.Cit.-

1.5.3.6. Fuentes de inóculo del patógeno

“Las fuentes de inóculo se encuentran en las hojas, ramas, inflorescencias, brácteas de las flores y en los frutos, en términos generales en todo el árbol [...]”-Idem-

1.5.3.7. Fase latente en frutos de tomate de árbol

“La fase latente puede ser de unos pocos días o de varias semanas, inclusive de meses, originando las infecciones quiescentes, las cuales son activadas por cambios bruscos de temperatura, daños al tejido por insectos, daños mecánicos, senescencia de tejidos o sobre maduración de los frutos, lo que produce lesiones necróticas durante la precosecha o postcosecha, que en condiciones normales no son detectadas [...]”Idem-

“El periodo de latencia es aquel desde la infección hasta que se convierte en tejido infeccioso (propágulo)”-Idem-

“La infección quiescente se describe como una relación parasítica latente, que después de un tiempo prolongado cambia a una forma activa”-Idem-

²³[http://agronomia.ucaldas.edu.co/downloads/agronomia15\(1\)_6.pdf](http://agronomia.ucaldas.edu.co/downloads/agronomia15(1)_6.pdf)-Op.Cit.-

“La quiescencia se puede mostrar como una espora no germinada, a través de los síntomas como infecciones internas a visibles, pero no en lesiones no expandidas como la mancha fantasma del tomate”.²³-Op.Cit.-

“La quiescencia puede ser promovida por condiciones fisiológicas y físicas adversas que pueden ser impuestas temporalmente por el hospedante sobre el patógeno, por modificación de la capacidad patogénica del organismo y por resistencia temporal del hospedante”.-Idem-.

1.5.3.8. Hibernación del hongopatógeno

El hongo hiberna en los restos de plantas afectadas, así como en las semillas; produce infecciones leves del follaje y tallos jóvenes que pueden pasar inadvertidas, pero que le permiten sobrevivir y reproducirse hasta que el fruto empieza a madurar y se hace susceptible a la infección. Las altas temperaturas y la gran humedad que prevalecen cuando ocurre la maduración de los frutos, favorecen la infección y propagación del hongo, conduciendo frecuentemente a epidemias destructivas.¹¹-Op.Cit.-

1.5.3.9. Asociación del patógeno con otros microorganismos

Este patógeno tiene gran facilidad para asociarse con otros microorganismos, especialmente con bacterias del tipo *Pseudomonas*, que actúan en asocio (sinergismo) y le permiten una mejor germinación y formación de órganos que le facilitan la infección (apresorio), mientras la bacteria se beneficia, obteniendo del lugar donde producen las esporas elementos nutritivos como el hierro para formar metabolitos [...]”-Idem-.

²³[http://agronomia.ucaldas.edu.co/downloads/agronomia15\(1\)_6.pdf](http://agronomia.ucaldas.edu.co/downloads/agronomia15(1)_6.pdf)-Op.Cit.-

¹¹<http://www.bayercropscience.com.pe/web/index.aspx?articulo=347>-Op.Cit.-

1.5.3.10. Pérdidas causadas por efectos de la enfermedad

“Se dan en diferentes estados de crecimiento vegetativo, sobre todo por la caída prematura de inflorescencias y frutos, ocasionando disfunciones fotosintéticas y fisiológicas y pérdidas postcosecha”.²³-Op.Cit.-

1.5.3.11. Diagnostico de la producción de tomate de árbol en la zona de Paute

Mediante encuestas realizadas en la zona de Paute, en donde se ejecutó la investigación, se constató que los productos químicos utilizados por los agricultores para el control de la enfermedad, en orden de importancia son: Triziman-D, Fitoraz, Daconil, Ridomil.

1.5.3.12. Labores culturales recomendadas

- “Se debe comenzar por estudiar bien la zona en donde se va a plantar, con suelos adecuados, sanos y tratados para empezar la siembra.
- Hacer la fertilización necesaria, de acuerdo con los requerimientos propios del cultivo (previo análisis de suelos).
- Ampliar la densidad de siembra de 3 por 3 metros y mantener un porte bajo del árbol (poda de formación).
- Hacer un cuidadoso monitoreo para detectar la enfermedad en sus inicios y remover y enterrar o quemar el material afectado”.¹²-Op.Cit.-
- “Cuando el clima favorece al hongo y hay presencia de éste, lo más recomendable es aplicar fungicidas sistémicos en mezcla con preventivos y/o en rotación con otros fungicidas de diferentes grupos químicos”-Idem-.

²³[http://agronomia.ucaldas.edu.co/downloads/agronomia15\(1\)_6.pdf](http://agronomia.ucaldas.edu.co/downloads/agronomia15(1)_6.pdf)-Op.Cit.-

¹²<http://periodicoellabriego.com:8080/EILabriego/periodicoService?task=fileView&columnId=202->Op.Cit.-

1.5.4. EL CONTROL BIOLÓGICO

“Se entiende por control biológico la reducción de la densidad o de las actividades productoras de enfermedades de un patógeno o parásito, en su estado activo o durmiente, lograda de manera natural o a través de la manipulación del ambiente, del hospedero o de antagonistas del patógeno o plaga que se quiere controlar. En condiciones naturales los microorganismos están en un equilibrio dinámico en la superficie de las plantas. La disminución de la flora de competencia por prácticas agrícolas como lavado de frutos, aplicación de fungicidas, y desinfección de suelos entre otras, favorecen el desarrollo de los patógenos [...]”.²⁰

“Se trata de una definición muy amplia que abarca prácticamente a todo tipo de control fuera del químico [...]”-Idem-.

“Los métodos de control biológico para las enfermedades causadas por *Colletotrichum* tienen ahora gran importancia. [...]”.³⁰-Op.Cit.-

“Es necesario integrar el control biológico con otras técnicas de control, con el fin de obtener un efecto máximo”-Idem-.

“Los géneros *Bacillus*, *Pseudomonas* y *Trichoderma* han sido involucrados en los estudios de control biológico frente a *C. gloeosporoides*”-Idem-.

²⁰Control biológico, 2010; <http://www.pv.fagro.edu.uy/fitopato/cursos/fitopato/practicas/mintegrado.html>
³⁰http://www.agronet.gov.co/www/docs_si2/20061127162055_Interaccion%20microorganismo%20antracosis%20tomate%20de%20arbol.pdf-Op.Cit.-

Una de las alternativas de control biológico es a partir de microorganismos antagonistas, que en este caso es la utilización de hongos endófitos antagonistas para el control de enfermedades, entendiéndose por antagonistas, aquellos organismos que interfieren en la supervivencia o desarrollo de los patógenos”.²⁰-Op.Cit.-

“A veces, los microorganismos antagónicos pueden consistir en cepas avirulentas del mismo patógeno, destruye o inhibe su desarrollo, como ocurre en la hipovirulencia y en la protección cruzada.[...]”.²

1.5.4.1. Mecanismos mediante los cuales los antagonistas ejercen su acción

“En general los antagonistas no tienen un único modo de acción y la multiplicidad de modos de acción es una característica a seleccionar en un antagonista. Se han descrito varios mecanismos de acción de los antagonistas para controlar el desarrollo de patógenos sobre fruta. Ellos son: [...]”.²⁰

1.5.4.2. Antibiosis

“Se refiere a la producción por parte de un microorganismo de sustancias tóxicas para otros microorganismos, las cuales actúan en bajas concentraciones (menores a 10 ppm). La antibiosis es el mecanismo de antagonismo entre microorganismos más estudiado”-
Idem-.

²⁰<http://www.pv.fagro.edu.uy/fitopato/cursos/fitopato/practicas/mintegrado.html>-Op.Cit.-¹AGRIOS, George N., Fitopatología, 2da. Edición, 1989, p.569

1.5.4.3. Competencia

“Este mecanismo de acción también es de los más efectivos pues la competencia establecida entre el agente antagónico y el organismo problema, permite el desarrollo del antagónico y no el del problema [...]”.¹³

1.5.4.4. Parasitismo

“Se refiere al hecho de que un microorganismo parasite a otro. Puede ser definido como una simbiosis antagónica entre organismos. El parasitismo consiste en la utilización del patógeno como alimento por su antagonista. Generalmente se ven implicadas enzimas extra celulares tales como quitinasas, celulasas, b-1-3-glucanasas y proteasas que lisan o digieren las paredes de los hongos”.²⁰-Op.Cit.-

1.5.4.5. Predación

“En el caso de la predación el antagonista se alimenta de materia orgánica entre la cual ocasionalmente se encuentra el patógeno. No ha sido un mecanismo de acción muy importante en el desarrollo de agentes de biocontrol[...]”-Idem-.

1.5.4.6. Inducción de resistencia

Se acostumbra a postular que la resistencia es la regla mientras que la susceptibilidad es la excepción [...]. Las plantas presentan entonces mecanismos bioquímicos y físicos o estructurales de resistencia. Todos ellos gobernados genéticamente-Idem-.

¹³Algunas notas sobre el control biológico de enfermedades con microorganismos 2010;<http://www.ciad.mx/boletin/novdic04/algunasnotas.pdf>

²⁰<http://www.pv.fagro.edu.uy/fitopato/cursos/fitopato/practicas/mintegrado.html>-Op.Cit.-

1.5.4.7. Ventajas del control biológico

“La principal ventaja del control biológico sobre el control químico está en la ausencia de residuos químicos sobre las partes comestibles de los cultivos, así mismo aminora el daño al medio ambiente por la falta de químicos persistente”.⁴⁶

“Es un medio de lucha integrada respetando el medio ambiente, lo que da más seguridad, evitar productos tóxicos para la salud humana [...]”.⁸

1.5.5. ENDOFITISMO

“La palabra endófito se deriva del griego *endon*, que significa dentro y *phyte* que significa planta. Los endófitos son organismos que durante todo o parte de su ciclo de vida invaden los tejidos internos de las plantas sin causar síntomas de enfermedad, no así si el equilibrio se altera. [...]”.¹⁴

“Por lo tanto, puede extenderse a organismos diversos: virus, algas, nematodos, bacterias y hongos [...]”-Idem-.

⁴⁶Trichoderma en el Control Biológico de Enfermedades de Plantas, Comparación del Control Químico y el Control Biológico, 2010; http://www.controlbiologico.com/pp_revista_entomologia.htm

⁸Primer Seminario Nacional de Control Biológico, Memorias, Cuenca –Ecuador 2003, p. 36. ¹⁴Biotechnology workshop Isolation and Identification of entophytic fungi from vascular plants, 2009; <http://www.tfinnova.es/userfiles/file/Eventos/Workshop%20BIOTECNOLOG%C3%8DA%20sept%2009/Ponencias%20Workshop/Raimundo/Raimundo%20Parte%201.pdf>

“Al referirse a hongos viviendo dentro de los tejidos de una planta,[...] diferentes autores han propuesto definiciones más complejas, coincidiendo en que la naturaleza endofítica permite colonizar tejidos internos de plantas sin producir signos visibles de enfermedad.[...]”²¹

1.5.5.1. Características

“Los hongos endófitos forman con sus hospederos relaciones simbióticas complejas, y en la actualidad existe un gran número de interrogantes acerca del funcionamiento de esta simbiosis [...]”³³

“Sin embargo, el término puede cobijar tanto hongos saprófitos como hongos patógenos latentes. Estos últimos pueden producir síntomas sobre su hospedero cuando el tejido en el que habitan se debilita o empieza a morir [...]”-Idem-

“El interés por los microorganismos denominados “endófitos” ha crecido Considerablemente en los últimos años, debido a varios motivos.”²¹

- “Su presencia influye en el desarrollo de la planta sobre la que vive
- Son una fuente interesante de nuevos productos bioactivos
- La interacción endófito-vegetal constituye un modelo interesante para conocer mejor el funcionamiento de los ecosistemas”-Idem-

“El considerar un hongo como endófito, no excluye que pueda llegar a causar síntomas de enfermedad en el vegetal si éste se encuentra en una situación desfavorable. También podría ocurrir que hongos aislados y descritos como endófitos sean en realidad patógenos en un estadio latente”-Idem-

²¹Catastro de hongos endófitos miceliales en *Thrinaxmorrisii*H. Wendl. En el bosque estatal de Susúa, Sabana Grande, Puerto Rico, 2005 <http://grad.uprm.edu/tesis/espolasepulveda.pdf>

³³Hongos endófitos tropicales: conocimiento actual y perspectivas, 2010; <http://www.scielo.org.co/pdf/abc/v11s1/v11s1a01.pdf>

“Los hongos endófitos están divididos en tres grandes grupos: hongos micorrícicos, hongos endófitos de pastos y hongos endófitos de otros grupos de plantas”²¹-Op.Cit.-

1.5.5.2. Interacción hongo endófito-vegetal en los mecanismos de defensa

“La presencia de los hongos endófitos contribuye a regular las poblaciones de especies vegetales, actuando sobre la dinámica de fitófagos, parasitoides y demás organismos dañinos para la planta”.¹⁴-Op.Cit.-

“Los hongos endófitos también contribuyen a proteger al vegetal de hongos fitopatógenos”-Idem.-

“La posibilidad de aumentar la defensa de las plantas a través de sus endófitos asociados abre un nuevo campo en el control de plagas y enfermedades de cultivos agrícolas. Además, podría contribuir a una disminución en el uso de fitosanitarios, lo que implicaría la obtención de alimentos más seguros y libres de residuos”-Idem.-

1.5.5.3. Efectos fisiológicos en el hospedero

Los hongos son microorganismos con gran capacidad de influir el destino y la disponibilidad de los nutrientes en un ecosistema, por lo que es viable pensar que su presencia tenga repercusiones fisiológicas en el hospedero. Por ejemplo, las especies de endófitos pueden afectar diferencialmente la tasa de uso de fotosintatos, ya que las especies varían en sus requerimientos y preferencias nutritivas. Esto podría afectar al hospedero, al inducir agotamiento de ciertos productos y/o acumulación de otros, de acuerdo con la presencia y/o dominancia de ciertos endófitos.³³-Op.Cit.-

“De otra parte, los hongos endófitos también producen metabolitos secundarios que pueden proteger la planta [...]”-Idem.-

²¹<http://grad.uprm.edu/tesis/espolasepulveda.pdf>-Op.Cit.-

¹⁴<http://www.tfinnova.es/userfiles/file/Eventos/Workshop%20BIOTECNOLOG%C3%8DA%20sept%2009/Ponencias%20Workshop/Raimundo/Raimundo%20Parte%201.pdf>-Op.Cit.-

³³<http://www.scielo.org.co/pdf/abc/v11s1/v11s1a01>-Op.Cit.-

1.5.6. MEDIOS DE CULTIVO MICROBIOLÓGICO

“Uno de los sistemas más importantes para la identificación de microorganismos es observar su crecimiento en sustancias alimenticias artificiales preparadas en el laboratorio. El material alimenticio en el que crecen los microorganismos es el Medio de Cultivo y el crecimiento de los microorganismos es el Cultivo”.³⁴

1.5.6.1. Medios de cultivo para hongos

“Existen una gran cantidad de medios de cultivos para la propagación y estudio de hongos, pero la mayoría han sido diseñados con alguna finalidad especial, tales como la seguridad de un crecimiento óptimo o para determinar la necesidad de una sustancia específica de un moho determinado”.³⁷

“Los medios para micología difieren en varios aspectos de aquellos que se usan en Bacteriología. La mayoría de los hongos prefieren un medio ácido e incluso muchas especies toleran una acidez relativamente alta”³⁹

Se usa hidratos de carbono como fuente de energía, y el nitrógeno se suministra como sales inorgánicas, sea como nitrato o como sales de amonio [...]”⁹

“Se añadirán antibióticos antibacterianos para inhibir el crecimiento de las bacterias saprofitas que suelen contaminar las muestras. Los más usados son el Cloranfenicol y la Gentamicina. Se añade también actidiona (Cicloheximida) que inhibe el desarrollo de hongos saprofitos ambientales [...]”³⁸

³⁴Los medios de cultivo en microbiología, 2010; <http://www.microinmuno.qb.fcen.uba.ar/SeminarioMedios.htm>

³⁷Medios para hongos, 2010; http://fai.unne.edu.ar/biologia/micologia/13_micologia.htm

⁹VALDANO Tatur, *Biotecnología vegetal*, 54

³⁹Medio olido PDA, 2010; <http://es.answers.yahoo.com/question/index?qid=20081024133259AA9s2ug>

³⁸Medios de cultivo, 2010; http://danival.org/fungi/fungi_medios.html

Los elementos químicos esenciales para el cultivo de hongos son: C, H, O, S, N, P, K, Mg, Fe, etc. También son necesarias cantidades mínimas de otros elementos para el crecimiento de ciertos hongos. La mayoría de los medios naturales y de los medios sintéticos preparados con drogas de calidad técnica, normalmente contienen suficiente cantidad de los llamados “elementos trazas”, pero a veces es necesario agregarlos deliberadamente cuando se preparan con drogas de calidad analítica.²

1.5.6.2. Medios de cultivo según su utilización

1.5.6.2.1. Medios para aislamiento

“Son medios muy diversos pero con la particularidad común de poder obtener a partir de ellos colonias aisladas [...]”.⁵

1.5.6.4.2. Medios de identificación

“Son medios que nos sirven para identificar el crecimiento y características de alguno tipo de microorganismos [...]”.⁴⁰

1.5.6.4.3. Medios de mantenimiento de de cepas

“Son medios que suelen tener los nutrientes necesarios para mantener a las cepas vivas durante periodos de tiempo relativamente largos [...]”⁴¹.

²Centro Internacional de la Papa, *Técnicas de cultivo de tejidos*, 2004, p.12

⁵GRANADOZ R. y VILLAVERDE M. *Microbiología*, 2d Edición.p.10-11.

⁴⁰Medios de cultivos para el crecimiento de hongos, 2010; <http://mesa53lm.blogspot.com/2009/11/medios-de-cultivo-para-elcrecimiento.html>

⁴¹Metodología para la manipulación y cultivo in vitro de *Mycosphaerella fijiensis*, 2010; <http://web.catie.ac.cr/informacion/RMIP/rmip53/ht53-b.htm>

CAPÍTULO II

MATERIALES Y MÉTODOS

2. RECURSOS Y METODOLOGÍA

2.1. Recursos

2.1.1. Recursos humanos

Ejecutora del trabajo de investigación: María Ipatia Ríos Madril

Director de Tesis: Lic. Ernesto Delgado Fernández MSc.

2.1.2. Equipos y herramientas

En el laboratorio:

- Fichas
- Registros
- Cámara fotográfica
- Computador
- Espátula
- Tubos de ensayo
- Mascarilla
- Mechero de Bunsen
- Autoclave
- Azade platino
- Mangos bacteriológicos
- Pinzas
- Cinta parafilm
- Cajas petri
- Porta objetos
- Cubre objetos

- Algodón
- Matraces
- Pipetas
- Porta tubos
- Guantes
- Mandil
- Puntas de micro pipeta
- Cámara de recuento Neubauer
- Atomizadores
- Balanza analítica de precisión
- Fundas herméticas
- Hornilla eléctrica
- Autoclave
- Papel aluminio
- Agitador magnético
- Cámara de flujo laminar
- Mechero alcohol
- Papel de filtro
- Vasos de precipitación

En el campo

- Letreros
- Fundas herméticas
- Azadilla
- Bomba de fumigar
- Cinta métrica
- Estacas
- Piola
- Rótulos
- Dosificador
- Machete
- Atomizadores
- Higrómetro
- Alambre
- Fundas negras de polietileno
- Fundas plásticas transparentes
- Balanza de precisión
- Desbrozadora

2.1.3. Insumos y reactivos

En el laboratorio:

- Alcohol
- Azul de metileno
- Agar
- Cloro
- PDA
- Agua destilada
- Tween 20
- Detergente

Productos químicos utilizados en la desinfección del suelo:

- Vitavax
- Cañón

2.1.4 Recursos biológicos

En el laboratorio:

- Hongos endófitos antagonicos
- Hongo patógeno
- Frutos de tomate

En el campo:

- Hongos antagonicos (solución biológica)
- Hongo patógeno (solución biológica)
- Plantas de tomate
- Sustrato

2.2. Metodología

2.2.1. Delimitación del lugar de investigación y duración

El proyecto de investigación se realizó en la fase inicial en el laboratorio de Biotecnología de la Universidad Politécnica Salesiana en el Campus “Juan Lunardi” sector Yumacay cantón Paute, provincia del Azuay. La segunda fase fue ejecutada igualmente en la granja del Campus “Juan Lunardi”.

La presente investigación tubo un período de duración de siete meses.

2.2.2. Datos climatológicos del lugar de experimento

Las condiciones climatológicas en la que se desarrolló la investigación se presenta en el siguiente cuadro:

Dato Meteorológico	Promedio Anual
Temperatura	16-22 °C
Pluviosidad	500-1500 mm
Altitud	2220 m.s.n.m
Longitud	78° 45' 19" Este
Latitud	2° 46' 45" Sur
Evaporación	8cc/día
Velocidad del viento	1.5-2.0Km/h.
Humedad relativa	65-75%

Cuadro 5: Fuente: Estación experimental del Colegio 26 de Febrero, Paute

2.3. Factores de estudio

El ecotipo bajo estudio fue: Amarillo puntón

2.4. Tratamientos bajo estudio:

TRATAMIENTOS	
Tratamiento1:	<i>Nigrospora sp.</i> codificado como A13 (suspensión de esporas) 10ml por planta.
Tratamiento2:	<i>Nigrospora sp.</i> codificado como A20 (suspensión de esporas) 10ml por planta.
Tratamiento3:	<i>Hongo X</i> (suspensión de esporas micelio estéril) 10ml por planta.
Testigo Referencial:	<i>Colletotrichum gloesporioides Penz</i> (suspensión de esporas) 10ml por planta.
Testigo Absoluto:	(Sin inóculo).

Cuadro 6: Tratamientos bajo estudio

2.5. Metodología empleada

2.5.1. Diseño experimental

El recurso estadístico utilizado fue de un diseño de Bloques Completamente al Azar, con cinco tratamientos y cuatro repeticiones respectivamente, obteniendo 20 bloques en total. En los casos que hubo diferencias significativas se realizó las comparaciones múltiples utilizando la prueba de Tukey al 95%.

ADEVA (Esquema del Análisis de Varianza)

Fuente de Variación		G.L	S.C.	C.M.	Fc
Total	T-1	19			
Repetición	r-1	3			
Tratamiento	T-1	4			
Error	(G.L _r)(G.L _t)	12			

Cuadro 7: Esquema del Análisis de Varianza

2.5.2. Población y muestreo

La población total bajo estudio fue de 80 plantas, distribuidas en cinco tratamientos con cuatro repeticiones.

- Número de plantas por tratamiento: 16 plantas.
- Número de plántulas por repeticiones: 4 plantas.

Los datos que se analizó, fue con el total de de la población bajo estudio, es decir con el 100%.

2.6. DESARROLLO DE LA INVESTIGACIÓN

TRABAJO EN LABORATORIO

2.6.1. Toma de muestras (frutos infectados)

Se recolectó muestras de frutos de tomate de árbol infectados con el hongo patógeno (*Colletotrichum gloeosporioides* Penz), al azar.



Figura 1: frutos de tomate *Solanum betaceum* infectados con Antracnosis (*Colletotrichum gloeosporioides* Penz). Fuente: María Ríos

2.6.2. Preparación de medios de cultivos MEA (Medio Agar Extracto de Algas) y PDA (Agar Dextrosa de Papa)

Se preparó los medios de cultivo MEA y PDA en un porcentaje de 33.6 gr. y el PDA en 39gr.; ambos en 1000ml de agua destilada, posteriormente se esterilizó a una temperatura de 120°C con una presión de 15 atmósferas por 15 minutos.



Figura 2: Peso del Agar.
Fuente: María Ríos



Figura 3: Medios PDA y Agar listos para ser esterilizados. Fuente: María Ríos

2.6.3. Preparación y siembra de las muestras de los frutos de *Solanum betaceum* infectados con *Colletotrichum gloeosporioides* Penz.

La siembra se realizó cortando pedazos de 3 a 4 mm² del fruto infectado, y para esterilizar se desinfectó en inmersiones de hipoclorito de sodio (NaClO) al 4%, etanol (C₂H₅OH) al 75% y en agua destilada, con un tiempo de inmersión variable, finalmente se procedió a sembrar las muestras ubicándolas en forma de estrella, cinco muestras por caja petri con Agar Extracto de Malta, se selló y rotuló la caja con la fecha y código correspondiente. Este proceso se realizó en la cámara de flujo laminar para evitar cualquier tipo de contaminación, al igual que los siguientes procesos.



Figura 4: Preparación de las muestras de tomate infectado con *Colletotrichum gloeosporioides* Penz.

Fuente: María Ríos



Figura 5 y 6: Desinfección y siembra de segmentos de tomate de árbol, infestados con *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. Fuente: María Ríos

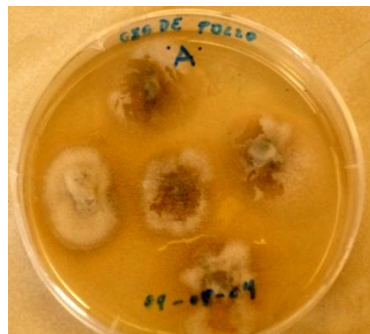


Figura 7: Desarrollo del hongo *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. Fuente María Ríos

2.6.4. Obtención del cultivo puro

Para obtener el cultivo puro se tomó fragmentos de micelio desarrollado en las cajas petri y se ubicó en el centro de una nueva caja con terreno PDA, se selló, rotuló y codificó.



Figura 8: Cultivo puro del hongo endófito *Nigrospora* sp. Fuente: María Ríos

2.6.5. Caracterización del hongo (*Colletotrichum gloeosporioides* Penz)

Se preparó una placa microbiológica con un pequeño fragmento de micelio para ser observada en el microscopio, para aumentar el contraste y lograr una mejor visualización de estructuras y composición (conidios y conidioforos) se colocó una gota de azul de metileno sobre la muestra del hongo.



Figura 9: Preparando una placa microbiológica del hongo patógeno (*Colletotrichum gloeosporioides* Penz) para observar en el microscopio Fuente: María Ríos

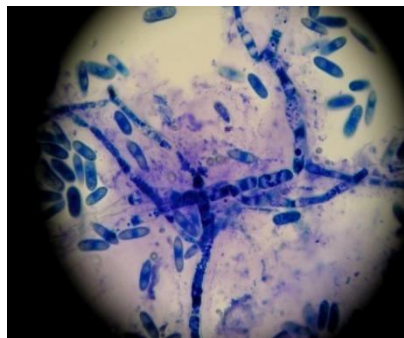


Figura 10: Foto al microscopio de micelios y conidios del hongo *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. usando una resolución 40x

2.6.6. Insolamiento de los hongos endófitos y patógenos

Una vez caracterizado el hongo se insoló en tubos de ensayo con PDA a pico de clarín con la finalidad de conservar la cepa, la misma que es codificada, rotulada y almacenada en un lugar fresco y seguro.



Figura 11: Hongo patógeno insolado en tubos de ensayo a pico de clarín. Fuente: María Ríos

2.6.7. Valoración in vitro de la actividad de antagonismo dual hongo endófito-hongo fitopatógeno.

Para el empleo del test, se parte de cultivos monospóricos, se emplea el método de cultivos duales, con puntales estériles, se toman fragmentos de micelio de 4 a 5 mm de diámetro, estos son tomados de los cultivos monospóricos en desarrollo, en un terreno PDA, e inoculados en una cámara de flujo laminar, en cajas petri de (100 x 15 mm) que contiene el mismo terreno. Los dos micelios a antagonizar son inoculados a 4cm de distancia (2.5 cm de distancia del borde de la caja). En cada prueba se lleva una caja de control, que se obtiene del mismo cultivo madre (monospórico), es inoculada en duplicados sobre PDA a la distancias de 2,5 cm del borde de la caja petri. Todos los test se llevan a cabo en duplicados, en este caso los cultivos se mantienen a temperatura ambiente y se realizan mediciones diarias del radio dirigidas hacia el centro de la caja. La inhibición de los hongos fitopatógenos opuestos a los hongos endófitos se expresa como porcentaje de inhibición del crecimiento radial del micelio.

$$\text{Inhibición (\%)} = 100 \times (R - r)/R$$

Donde R y r, respectivamente son el radio dirigido hacia el centro de la caja en el control y en el cultivo dual.



Figura 12: Cultivo dual del hongo endófito *Nigrospora sp.*–hongo *Colletotrichum gloeosporioides* Penz.
Fuente María Ríos

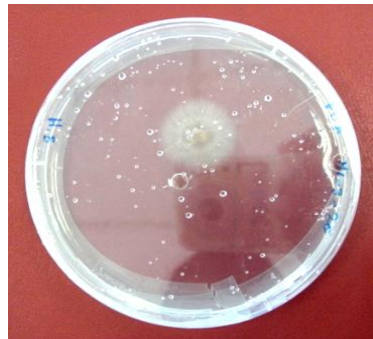


Figura13: Control hongo *Colletotrichum gloeosporioides* Penz Fuente: María Ríos

2.6.8. Toma de datos

Los datos que se tomó fue el crecimiento radial del micelio dirigido hacia el centro de la caja, tanto de los hongos en los cultivos duales como en el control; se midió el crecimiento en mm a partir del segundo día de haber sembrado, se continuó midiendo diariamente y a la misma hora, hasta el día en que los hongos de los cultivos duales se unieron.

2.6.9. Producción del inóculo de los hongos antagonistas y el patógeno.

Para obtener las suspensiones se partió de cultivos monospóricos de 15 días de edad, los primeros 5 días en completa obscuridad, y luego hasta el día 15 con un fotoperiodo

normal de 16 horas luz, con el objeto de estimular la esporulación, Se sembró en matraces erlenmeyer de 250 ml, con 40 ml de PDA, a los que se les hace 5 lavados inmediatos con 100 ml de agua destilada estéril a cada uno, obteniendo 500 ml de suspensión por cada matraz, los cuales se filtró con una gasa estéril.

Posteriormente se adicionó Tween 20 al 0,5%, y determinamos la concentración de conidias o ufc (unidades formadoras de colonias) por ml, para lo que utilizamos un hematocimetro o cámara de Neubauer.



Figura 14 y 15: Cultivos monospóricos hongo endófito (izquierda) y patógeno (derecha).
Fuente: María Ríos

TRABAJO DE CAMPO

2.6.10. Adecuación y mantenimiento de las plantas

Previo a la desinfección de las plantas con sulfato de cobre pentahidratado, fueron transplantadas en fundas negras con el sustrato (dos partes de tierra negra, una parte de arena y una de abono orgánico.). El sustrato se desinfectó con Kocide 100 (Hidróxido de cobre) y Cañón (Clorpirifos + cipermetrina).

Las plantas se mantuvieron bajo condiciones semicontroladas de microclima cuya temperatura promedio fue de 22,45 °C en la mañana y 23,48°C en la tarde, la humedad relativa tuvo un promedio de 76,38% en la mañana y 67,45% en la tarde.

El área del terreno utilizado para la ubicación de las plantas fue de 60 m² (12.00 m x 5.00 m)

El riego se realizó mediante aspersión con agua blanda, según las necesidades del cultivo.



Figura 16: Riego de las plantas de tomate

Fuente: María Ríos



Figura 17: Regulando las condiciones de H y T°

Fuente: María Ríos

2.6.11. Inoculación de los tratamientos

El material vegetal que se utilizó fue plántulas de tomate de árbol *Solanum betaceum*, ecotipo Amarillo puntón de 3 meses de edad.

Se inoculó la suspensión del patógeno en todos los tratamientos y repeticiones, excepto en el testigo absoluto, posteriormente se aplicó las suspensiones de los endófitos antagónicos (*Nigrospora sp.* codificado como A13, *Nigrospora sp.* codificado como A20 y hongo X1 micelio estéril) veinte y cuatro horas después de haber aplicado el hongo patógeno.

Las dosis que se emplearon fueron de 10 ml por planta en todos los tratamientos.



Figura 18 y 19: Inoculación de los tratamientos en las plantas de tomate con *Nigrospora* A13, A 20 y Hongo X1 micelio estéril. Fuente: María Ríos

2.6.12. Toma de datos

Se evaluó después de un mes de realizado la inoculación, determinándose: altura, peso de la biomasa fresca y número de hojas infestadas. La altura de la planta se midió en cm, desde el cuello hasta el ápice de crecimiento más alto.

La temperatura y la humedad se tomo diariamente en la mañana y en la tarde, a la misma hora.



Figura 20: Medición de Temperatura y humedad. Fuente: María Ríos



Figura 21: Midiendo el altura final de las plantas de tomate

Fuente: María Ríos



Figura 22 y 23: Peso de la biomasa fresca de las plantas de tomate

Fuente: María Ríos

CAPÍTULO III

3. RESULTADOS

El recurso estadístico utilizado fue de un diseño de Bloques Completamente al Azar (DBCA).

3.1. Porcentaje de antagonismo (en laboratorio)

Se comprobó en laboratorio que el Hongo X1 micelio estéril tubo el porcentaje más alto de inhibición esto es con el 89.1%.

PORCENTAJE DE ANTAGONISMO	
Hongos endófitos	
<i>Nigrospora sp.</i> codificado como A13:	73,9%
<i>Nigrospora sp.</i> codificado como A20:	81,08%
Hongo X1 micelio estéril	89,1%

Cuadro 8: Porcentaje de antagonismo

³Delgado E. 2009 Actividad biológica de hongos endófitos presentes en dos plantas medicinales chuquiragua (*Chuquiragua Jussieui J.F. Gemel*) y Ñachag (*Bidens andícola Kunth* pág. 35-Op.Cit.-

3.2. Resultados en el campo

3.2.1. NÚMERO DE HOJAS INFECTADAS

REPETICIONES	TRATAMIENTOS				
	1	2	3	Tr	Ta
I	5	5	8	16	10
II	10	5	10	11	10
III	7	6	9	15	8
IV	9	10	11	12	9
ΣT	31,00	26,00	38,00	54,00	32,00
$(\Sigma t)^2$	240,25	169,00	361,00	729,00	342,25
\bar{X}	7,75	6,5	9,5	13,5	9,25

Cuadro 9: Número de hojas infectadas obtenido en control biológico de la antracnosis (*Colletotrichum gloeosporioides* Penz) en tomate de árbol (*Solanum betaceum*), en el ecotipo: Amarillo puntón, mediante hongos endófitos antagonistas.

FUENTE DE VARIACION	GL	SC	CM	Fc	Ft 0,05
TOTAL	19	184,20			
REPETICIONES	3	34,20	11,40	3,57	9,11
TRATAMIENTOS	4	111,70	27,93	8,75**	3,26
ERROR	12	38,30	3,19		

Cuadro 10: Análisis de Varianza para el carácter número de hojas.

$$\bar{X} = 9,30$$

$$CV = 19,21 \%$$

La evaluación del grado de infección se lo hizo mediante observación, contando el número de hojas que presentaban los síntomas de la antracnosis por cada unidad experimental, los resultados de $F_c = 8,75$ y $F_t = 3,26$ a los 30 días de iniciado el experimento, revelan que existe diferencias significativas entre los tratamientos. El mejor comportamiento lo presenta el aislado A20 de *Nigrospora sp*, que corresponde al “Tratamiento 2” que difiere significativamente con el resto de los tratamientos. Aunque también el “Tratamiento 1” que corresponde a la cepa A13 de *Nigrospora sp*, difiere significativamente del Testigo Absoluto y el “Tratamiento 3”

Se acepta la hipótesis alternativa y rechaza la hipótesis nula.

TRATAMIENTOS	PROMEDIO	RANGOS
Tratamiento 2	6,5	A
Tratamiento 1	7,75	B
Testigo Absoluto 5	9,25	B
Tratamiento 3	9,5	B
Testigo Referencial 4	13,5	C

Cuadro 11: Prueba de Tukey 95% para el carácter número de hojas

3.2.2. ALTURA FINAL/cm.

REPETICIONES	TRATAMIENTOS				
	1	2	3	4	5
I	164,80	149,40	180,10	141,20	197,50
II	157,80	195,00	183,00	152,70	154,70
III	158,50	172,00	168,50	110,80	172,80
IV	158,50	166,50	157,50	120,30	150,30
ΣT	639,60	682,90	689,10	525,00	675,30
$(\Sigma t)^2$	102272,04	116588,103	118714,703	68906,25	114007,523
\bar{X}	159,9	170,725	172,275	131,25	168,825

Cuadro 12: Altura final obtenido en el control biológico de la antracnosis (*Colletotrichum gloeosporioides* Penz) en tomate de árbol (*Solanum betaceum*), en el ecotipo: Amarillo puntón, mediante hongos endófitos antagonistas, expresado en cm.

FUENTE DE VARIACION	GL	SC	CM	Fc	Ft 0,05
TOTAL	19	8656,15			
REPETICIONES	3	1084,44	361,48	1,87	9,11
TRATAMIENTOS	4	4673,54	1168,38	6,05**	3,26
ERROR	12	2898,17	193,21		

Cuadro 13: Análisis de Varianza para el carácter altura final en cm.

$$\bar{X} = 160,60$$

$$CV = 8,66\%$$

La evaluación del parámetro altura se lo realizó midiendo desde el cuello hasta el ápice de todas las plantas por unidad experimental, el valor de $F_c = 6,05$ y $F_t = 3,26$ nos indica que existen diferencias significativas entre tratamientos, en donde el Testigo Referencial difiere significativamente del resto de Tratamientos, esto nos indica que *Colletotrichum gloeosporioides* afecta negativamente en el crecimiento de *Solanum betaceum*.

Se acepta la hipótesis alternativa y rechaza la hipótesis nula.

TRATAMIENTOS	PROMEDIO	RANGOS
Tratamiento 2	170,725	A
Tratamiento 1	159,9	A
Tratamiento 3	172,275	A
Testigo absoluto 5	168,825	A
Testigo Referencial 4	131,25	B

Cuadro 14: prueba de Tukey 95% para el carácter altura final en cm.

3.2.3. BIOMASA FRESCA/g.

REPETICIONES	TRATAMIENTOS				
	1	2	3	4	5
I	173,15	193,11	273,95	141,20	225,99
II	203,88	246,01	186,01	152,70	201,88
III	203,11	230,01	261,36	110,80	225,14
IV	200,22	239,14	172,2	120,30	154,76
ΣT	780,36	908,27	893,52	525,00	807,77
$(\Sigma t)^2$	608961,73	824954,393	798377,99	68906,25	652492,373
X	195,09	227,0675	223,38	131,25	201,9425

Cuadro 15: Biomasa fresca obtenido en el control biológico de la antracnosis (*Colletotrichum gloeosporioides* Penz) en tomate de árbol (*Solanum betaceum*), en el ecotipo: Amarillo puntón, mediante hongos endófitos antagonistas, expresado en gr.

FUENTE DE VARIACION	GL	SC	CM	Fc	Ft 0,05
TOTAL	19	28177,84			
REPETICIONES	3	3096,87	1032,29	1,43	9,11
TRATAMIENTOS	4	14266,92	3566,73	4,95*	3,26
ERROR	15	10814,05	720,94		

Cuadro 16: Análisis de Varianza para el carácter biomasa fresca en g.

=

$$\bar{X} = 195,75$$

$$CV\% = 14,66$$

La evaluación de la biomasa final, se hizo pesando cada unidad experimental, el análisis realizado indica que existen diferencias significativas $F_c = 4,95$ y $F_t = 3,26$, encontrándose que el Testigo Referencial difiere significativamente del resto de tratamientos, los cuales tienen un comportamiento estadístico similar, lo que nos indica que la infección por *Colletotrichum gloeosporioides* influye en el metabolismo vegetal y producción de biomasa.

Se acepta la hipótesis alternativa y rechaza la hipótesis nula.

TRATAMIENTOS	PROMEDIO	RANGOS
Tratamiento 2	227,0675	A
Tratamiento 3	223,380	A
Testigo absoluto 5	201,9425	A
Tratamiento 1	195,090	A
Testigo Referencial 4	131,25	B

Cuadro 17: prueba de Tukey 95% para el carácter biomasa fresca en g.

3.2.4. TEMPERATURA Y HUMEDAD

\bar{X}	Mañana		Tarde	
	T°°C	HR%	T°°C	HR%
	22,45	76,38	23,48	67,45

Cuadro 18: Temperatura y humedad obtenida en el control biológico de la antracnosis (*Colletotrichum gloeosporioides* Penz) en tomate de árbol (*Solanum betaceum*), en el ecotipo: Amarillo puntón, mediante hongos endófitos antagonistas.

Estos resultados muestran que se logró la disminución de los daños causados por Antracnosis en *Solanum betaceum*, en este sentido se observa que *Nigrospora* A20 no interfiere negativamente en la fisiología de *Solanum betaceum*, y posiblemente promueva un mejor desarrollo de la misma, ya que las plantas pertenecientes a este tratamiento se observaron con mayor vigor. Como resultado de esta investigación se seleccionó a *Nigrospora* A20 y *Nigrospora* A13 para posteriores pruebas en campo bajo condiciones normales, debido a su potencial de antagonismo frente a *Colletotrichum gloeosporioides*.

3.3. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

3.3.1. Conclusiones

- Los tratamientos que se utilizó con agentes de biocontrol (hongos endófitos del género *Nigrospora*) penetraron en las plantas y se comportaron como agentes antagonistas de *Colletotrichum gloeosporoides* Penz.
- Los Tratamientos 1 (Suspensión de esporas de *Nigrospora*: A13) y 3 (Suspensión de esporas micelio estéril, cepa HX1) presentaron un comportamiento estadístico similar mientras que las plantas que corresponden al tratamiento 2 *Nigrospora*: A20 presentan mayor vigor y desarrollo lo que corrobora el análisis estadístico realizado.
- El efecto de los agentes biológicos utilizados como antagonistas (hongos endófitos) en el control biológico de *Colletotrichum* participan en la promoción del crecimiento de las plantas y el uso de hongos endófitos antagonistas del género *Nigrospora*, no afecta el desarrollo normal de la planta, en las condiciones que se llevó a cabo la investigación (temperatura y HR). Además que la infección por *Colletotrichum* influye en el metabolismo vegetal y producción de biomasa, según se evidencia en el análisis estadístico de biomasa
- Estos resultados evidencian la disminución y control de los daños causados por *Colletotrichum* en *Solanum betaceum*, en este sentido se observa que *Nigrospora* A20 se presenta como el mejor tratamiento, disminuyendo significativamente los síntomas de la Antracnosis. Podemos afirmar que dicha cepa no interfiere negativamente en la fisiología del cultivo, y posiblemente promueva un mejor desarrollo de la planta, ya que las plantas pertenecientes a este tratamiento se observaron con mayor vigor.
- De acuerdo a la definición de endofitismo “microorganismos (hongos) que viven asintomáticamente en la planta, la mayor parte de su ciclo vital, tienen

esporulación limitada en breves periodos y en algunos casos pueden estimular el desarrollo y la fuerza competitiva del huésped” podríamos concluir que es posible un beneficio indirecto de la planta huésped.

3.3.2. Recomendaciones

- Como resultado de esta investigación se considera, los tratamientos 1 y 2 a (*Nigrospora* sp. A20) y (*Nigrospora* sp.A13) para posteriores estudios en campo abierto bajo condiciones ambientales normales, debido a su potencial antagónico frente a *Colletotrichum*.
- Asimismo se recomienda probar inóculos combinados de hongos endófitos antagonistas. Así como el uso de pruebas moleculares y ADN ribosomal y el uso de marcadores ITS con el fin de verificar la presencia de los endófitos inoculados y / o del agente patógeno en la planta).
- Es recomendable también evaluar el potencial antagónico de los hongos endófitos, a campo abierto, y en condiciones ambientales diversas y medir el uso de macro y micro nutrientes en la potenciación de la efectividad del biocontrol.

3.4. BIBLIOGRAFIA

AGRIOS, George N., Fitopatología, 2da. Edición, 1989. Pág. 102 y 103

Centro Internacional de la Papa, *Técnicas de cultivo de tejidos*, 2004. Pág. 12

Delgado E. 2009 Actividad biológica de hongos endófitos presentes en dos plantas medicinales chuquiragua (*Chuquiragua Jussieui J.F. Gemel*) y Ñachag (*Biden sandícola Kunth*) La Granja 9(2). Ediciones ABYA-YALA Universidad Politécnica Salesiana pág. 29

Enciclopedia Práctica de la agricultura y la Ganadería, Editorial grupo Océano, 2002. Pág. 717

GRANADOZ R. y VILLAVERDE M. *Microbiología*, 2da Edición. Pág. 10 y 11

Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias INIAP, Guía de Cultivos, Octubre, 1999 Quito-Ecuador. Pág. 160

Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias, Estación Experimental Santa Catalina Departamento Nacional de Protección Vegetal, Enfermedades, nematodos e insectos plagas del tomate de árbol, Quito-Ecuador 2008. Pág. 7 y 27

Primer Seminario Nacional de Control Biológico, Memorias, Cuenca –Ecuador 2003. Pág. 36

VALDANO Tatur, *Bioteología vegetal*, 2007. Pág. 45

Citas electrónicas

Antracnosis 2010; <http://es.wikipedia.org/wiki/Antracnosis>

Antracnosis en tomate de árbol 2010; <http://www.bayercropscience.com.pe/web/index.aspx?articulo=347>

Antracnosis del tomate de árbol 2008; <http://periodicoellabriego.com:8080/ElLabriego/periodicoService?task=fileView&columnId=202>

Algunas notas sobre el control biológico de enfermedades con microorganismos 2010; <http://www.ciad.mx/boletin/novdic04/algunasnotas.pdf>

Biotechnology workshop Insolation and Identification of endophytic fungi from vascular plants, 2009; <http://www.tfinnova.es/userfiles/file/Eventos/Workshop%20BIOTECNOLOG%C3%8DA%20sept%202009/Ponencias%20Workshop/Raimundo/Raimundo%20Parte%201.pdf>

Cultivo de tomate de árbol, 2010; http://sian.inia.gob.ve/repositorio/revistas_tec/cen_iaphoy/articulos/n9/arti/aponte_a/arti/aponte_a.htm

Cultivo de tomate de árbol (*Solanum betaceum*), 2009; <http://www.mag.go.cr/bibliotecavirtual/a00168.PDF>

Caracterización y pruebas de patogenicidad cruzada entre aislamiento de *Colletotrichum* spp. Obtenidos de frutos de lulo, tomate de árbol y flores de mora, con síntomas de antracnosis, 2006; <http://www.javeriana.edu.co/biblos/tesis/ciencias/tesis239.pdf>

Caracterización del agente causante de la antracnosis en tomate de árbol, manzano y mora, 2008; http://www.accefyn.org.co/revista/Vol_32/123/145-156.pdf

Cultivo de tomate de árbol, 2010; <http://www.saber.ula.ve/bitstream/123456789/24321/2/articulo1.pdf>

Control biológico, 2010; <http://www.pv.fagro.edu.uy/fitopato/cursos/fitopato/practicas/mintegrado.html>

Catastro de hongos endófitos miceliales en *Thrinaxmorrisii*H. Wendl. en el bosque estatal de Susúa, Sabana Grande, Puerto Rico, 2005
<http://grad.uprm.edu/tesis/espolasepulveda.pdf>

Cultivo de tomate *Solanum betaceum* <http://articulos.infojardin.com/Frutales/fichas/arbol-de-tomates-tomate-arboreo-tamarillos-tomates-arbol.htm>

Diagnóstico precoz de la antracnosis (*Colletotrichum Gloeosporioides*) (Penz) Penz & Sacc. En tomate de árbol mediante el empleo de infecciones quiescentes, 2007; [http://agronomia.ucaldas.edu.co/downloads/agronomia15\(1\)_6.pdfseguir](http://agronomia.ucaldas.edu.co/downloads/agronomia15(1)_6.pdfseguir)

El INIAP identifica un material de tomate resistente a la enfermedad ojo de pollo, 2010; <http://www.dicyt.com/noticias/el-iniap-identifica-un-material-de-tomate-resistente-a-la-enfermedad-ojo-de-pollo>

El tomate de árbol, 2010; http://mail.iniapecuador.gov.ec/isis/view_detail.php?mfn=4949&qtype=search&dbinfo=PADIPR&words=OJO%20DE%20POLLO

El cultivo orgánico de tomate de árbol, 2010; <http://cultivotomatedearbol.blogspot.com/>

El tomate de árbol (*Solanum betaceum*), 2010; http://www.freshplaza.es/nws_detail.asp?id=36068

Enfermedades del tomate de árbol, 2010; <http://html.rincondelvago.com/plagas-y-enfermedades-en-el-cultivo-del-tomate.html>

Enfermedades de los tomates, 2010; <http://articulos.infojardin.com/huerto/Fichas/tomate-enfermedades.htm>

Estudios de la interacción biológica de microorganismos relacionados con *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.). Agente causal de la antracnosis en tomate de árbol (*Solanum betaceum*), 2010; http://www.agronet.gov.co/www/docs_si2/20061127162055_Interaccion%20microorganismo%20antracnosis%20tomate%20de%20arbol.pdf

Enfermedades del tomate de arbol, 2010; <http://www.biologia.edu.ar/microind/enfermedades%C3%B3n.htm>

Esterilización y desinfección como control de enfermedades, 2010; <http://www.monografias.com/trabajos15/esterilizacion-desinfeccion/esterilizacion-desinfeccion.shtml>

Hongos endófitos tropicales: conocimiento actual y perspectivas, 2010; <http://www.scielo.org.co/pdf/abc/v11s1/v11s1a01.pdf>

Los medios de cultivo en microbiología, 2010; <http://www.microinmuno.qbfcen.uba.ar/SeminarioMedios.htm>

Manual Del Cultivo De Tomate Por Boris Corpeño, 2004; http://www.fintrac.com/docs/elsalvador/Manual_del_Cutivo_de_Tomate_WEB.pdf

Manejo del tomate de árbol <http://www.tomatearbol.com/Tomate-de-Arbol/2>

Medios para hongos, 2010; http://fai.unne.edu.ar/biologia/micologia/13_micologia.htm
no hay

Medios de cultivo, 2010; http://danival.org/fungi/fungi_medios.html

Medio solido PDA, 2010; <http://es.answers.yahoo.com/question/index?qid=20081024133259AA9s2ug>

Medios de cultivos para el crecimiento de hongos, 2010; <http://mesa-5-3lm.blogspot.com/2009/11/medios-de-cultivo-para-elcrecimiento.html>

Metodología para la manipulación y cultivo in vitro de *Mycosphaerella fijiensis*,

2010; <http://web.catie.ac.cr/informacion/RMIP/rmip53/ht53-b.htm>

Manejo del cultivo de tomate de árbol 2008 [http:// www.sica.gov.ec.cultivotomatedearbol.blogspot.com/](http://www.sica.gov.ec.cultivotomatedearbol.blogspot.com/)

Tecnología del cultivo de tomate de árbol, 2010; http://www.sica.gov.ec/agronegocios/productos%20para%20invertir/frutas/tomate%20arbol/tecnologia_%20cultivo.htm

Tomate de árbol, 2010; <http://www.ceaecuador.org/imagesFTP/4789/tomate%20de%20arbol%20plagas%20y%20enfermedades%20SICA.htm>

Tomate de árbol, 2010; <http://www.angelfire.com/ia2/ingenieriaagricola/cosechas.htm>

Trichoderma en el Control Biológico de Enfermedades de Plantas Comparación del Control Químico y el Control Biológico, 2010; http://www.controlbiologico.com/pp_revista_entomologia.htm

ANEXOS

1. CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES

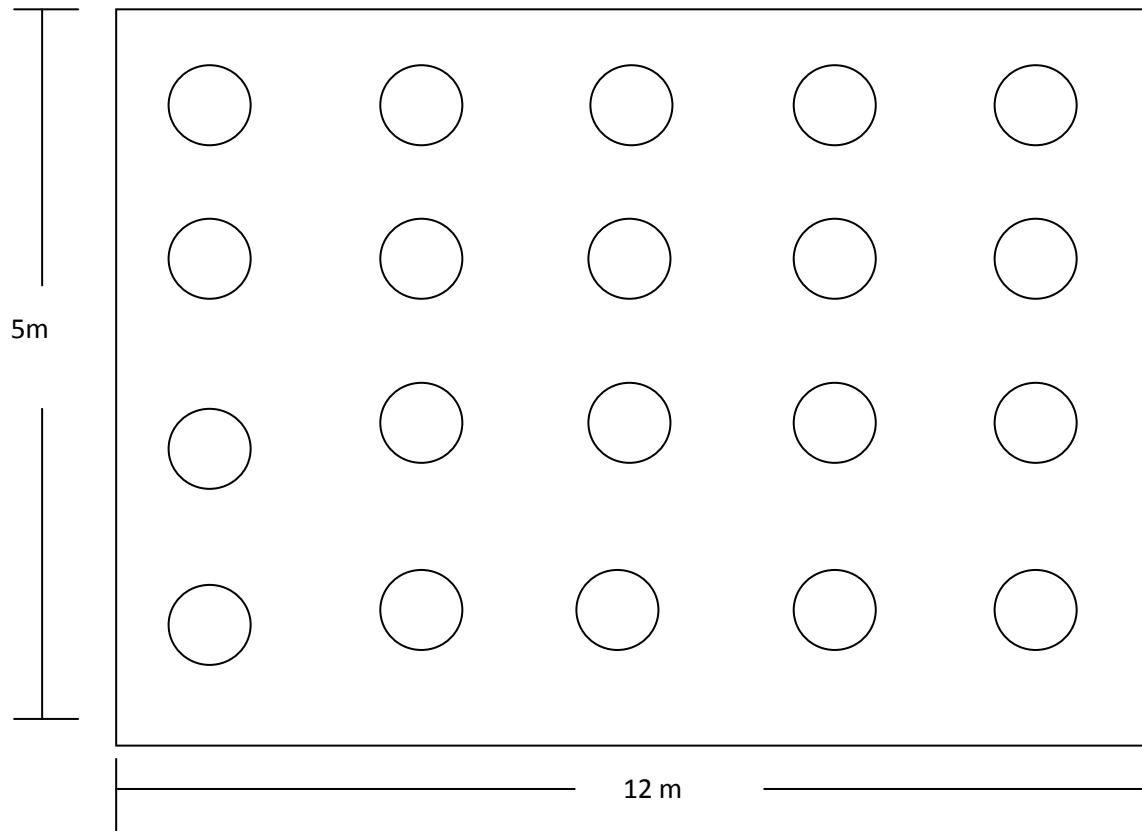
N°	ACTIVIDADES	DIC.ENERO				FEBRERO				MARZOO				ABRIL				MAYO				JUNIO			
		I	II	III	IV	I	II	III	IV	I	II	III	IV	I	II	III	IV	I	II	III	IV	I	II	III	IV
1	Elaboración del	X	X	X	X																				
2	Aprobación del proyecto				X	X																			
3	Adquisición:																								
	a. Insumes y Reactivos																								
	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>)					X																			
4	Preparación del medio para cultivar el hongo					X																			
5	Cultivo in vitro del hongo <i>Colletotrichum gloesporoides</i> Penz.					X																			
6	Insolamiento y análisis del hongo Fitopatógeno(<i>colletotrichum</i> m)							X	X																
7	Etapa I																								
	Análisis de los niveles de asociación del fitopatógeno in vitro									X	X														
	Análisis in vitro de los niveles de antagonismo									X	X														
8	Etapa II																								
	Análisis de los niveles de asociación del fitopatógeno en el campo																								
	Análisis de las condiciones del cultivo de <i>Solanum betaceum</i> en la zona de Paute											X													
9	Análisis preliminar y formulación													X	X	X	X								
10	Determinación del vehículo ó medio																X	X	X						
1	Toma de datos					X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X					
1	Elaboración del informe																				X				
1	Revisión final																								X
1	Presentación																								X

2. Costo total de la investigación

El costo total de investigación se muestra en el siguiente cuadro:

CUADRO DE COSTOS		
COSTO TOTAL/\$		
RUBROS	Unidad	Efectivo
Reactivos	Unidad	100,00
Medios de cultivo	Unidad	300,00
Materiales de laboratorio	Unidad	50,00
Insumos y material biológico	Unidad	40,00
Materiales de campo	Unidad	230,00
Otros gastos		
Estudiante	Unidad	250,00
Internet	Horas	60,00
Computadora	Horas	200,00
Impresiones	Horas	20,00
Empastados	Horas	24,00
Su-total		1274,00
Imprevistos al 10%		127,40
Total		1401,40

3. CROQUIS DEL ENSAYO EN EL CAMPO (macetas)



4. DATOS

4.1. Biomasa fresca/ gr

BIOMASA En gr.	
TRATAMIENTOS Y REPETICIONES	
1.-Nigrospora sp.A13	173,15
7.-Nigrospora sp.A13	203,88
13.-Nigrospora sp.A13	203,11
19.-Nigrospora sp.A13	200,22
2.- Nigrospora sp. A20	193,11
8. Nigrospora sp. A20	246,01
14.- Nigrospora sp. A20	230,01
20. Nigrospora sp.A20	239,14
3.- Hongo X1 micelio estéril	273,95
9.- Hongo X1 micelio estéril	186,01
15.- Hongo X1 micelio estéril	261,36
21.- Hongo X1 micelio estéril	172,2
5.- Testigo Referencial (<i>Colletotrichum gloesporioides</i> Penz)	141,20
11.- Testigo Referencial(<i>Colletotrichum gloesporioides</i> Penz)	152,70
17.- Testigo Referencial<i>Colletotrichum gloesporioides</i> Penz)	110,80
23.- Testigo Referencial (<i>Colletotrichum gloesporioides</i> Penz)	120,30
6.- -Testigo Absoluto	225,99
12.- Testigo Absoluto	201,88
18.- -Testigo Absoluto	225,14
24.- Testigo Absoluto	154,76

4.2. Número de hojas infestadas

NÚMERO DE HOJAS INFECTADAS	
TRATAMIENTOS Y REPETICIONES	
1.-Nigrospora sp.A13	5
7.-Nigrospora sp.A13	10
13.-Nigrospora sp.A13	7
19.-Nigrospora sp.A13	9
2.- Nigrospora sp. A20	5
8. Nigrospora sp. A20	5
14.- Nigrospora sp. A20	6
20. Nigrospora sp. A20	10
3.- Hongo X1 micelio estéril	8
9.- Hongo X1 micelio estéril	10
15.- Hongo X1 micelio estéril	9
21.- Hongo X1 micelio estéril	11
5.- Testigo Referencial (<i>Colletotrichum gloesporioides</i> Penz)	16
11.- Testigo Referencial (<i>Colletotrichum gloesporioides</i> Penz)	11
17.- Testigo Referencial (<i>Colletotrichum gloesporioides</i> Penz)	15
23.- Testigo Referencial(<i>Colletotrichum gloesporioides</i> Penz)	12
6.- -Testigo Absoluto	10
12.- Testigo Absoluto	10
18.- -Testigo Absoluto	8
24.- Testigo Absoluto	9

4.3. Altura final

LONGITUD FINAL/cm.				
TRATAMIENTOS Y REPETICIONES				
1.- <i>Nigrospora sp.</i> A13	40,5	33	35	32,7
7.- <i>Nigrospora sp.</i> A13	43,5	44,5	31,2	38,5
13.- <i>Nigrospora sp.</i> A13	43,5	40,5	39	35,8
19.- <i>Nigrospora sp.</i> A13	37	35	46,3	40
2.- <i>Nigrospora sp.</i> A20	39	35	36,7	38,7
8. <i>Nigrospora sp.</i> A20	45	43	52,5	54,5
14.- <i>Nigrospora sp.</i> A20	35,2	48	43,5	45,3
20. <i>Nigrospora sp.</i> A20	44	39,5	33	50
3.- Hongo X1 micelio estéril	46,3	45,5	47,5	40,8
9.- Hongo X1micelio estéril	41	50,5	43,5	48
15.- Hongo X1 micelio estéril	41	40,5	46	41
21.- Hongo X1 micelio estéril	50.5	35	30,5	41,5
5.-Testigo referencial (<i>Colletotrichum gloeosporioides</i> <i>Penz</i>)	46	32,5	41	45,3
11.- Testigo Referencial (<i>Colletotrichum gloeosporioides</i> <i>Penz</i>)	45,5	37	35,3	40
17.- Testigo Referencial (<i>Colletotrichum gloeosporioides</i> <i>Penz</i>)	36,5	40	43	39
23. Testigo Referencial (<i>Colletotrichum gloeosporioides</i> <i>Penz</i>)	52	34	38	34.5
6.- -Testigo Absoluto	51	55	47	44,5
12.- Testigo Absoluto	37,2	38	39,5	40
18.- -Testigo Absoluto	42,3	48	45,5	37
24.- Testigo Absoluto	34.6	43	37	35,7

4.4. Temperatura y humedad

TEMPERATURA Y HUMEDAD				
Fecha	Mañana		Tarde	
	T°	H°	T°	H°
27/02/2010	22	70	29	42
28/02/2010	23	69	27	50
01/03/2010	24	66	20	66
2/03/2010	22	67	21	59
3/03/2010	19	79	21	76
4/03/2010	20	90	22	60
5/03/2010	23	80	24	55
6/03/2010	24	71	23	61
7/03/2010	21	72	22	70
8/03/2010	25	70	24	60
9/03/2010	24	75	22	63
10/03/2010	25	77	26	73
11/03/2010	24	70	22	66
12/03/2010	20	79	23	78
13/03/2010	24	65	25	60
14/03/2010	25	73	27	62
15/03/2010	22	80	23	84
16/03/2010	19	84	22	81
17/03/2010	24	74	23	63
18/03/2010	19	81	22	70
19/03/2010	23	88	21	68
20/03/2010	24	61	23	65
21/03/2010	22	80	29	74
22/03/2010	24	79	25	70
23/03/2010	19	80	23	76
24/03/2010	28	63	23	74
25/03/2010	20	98	20	80
26/03/2010	19	90	24	79
27/03/2010	23	84	25	71