



**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA AGROPECUARIA DE MANABÍ
MANUEL FÉLIX LÓPEZ**

DIRECCIÓN DE CARRERA DE AGRÍCOLA

**INFORME DE TRABAJO DE TITULACIÓN
PREVIA LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE INGENIERO
AGRÍCOLA**

**MODALIDAD:
PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN**

TEMA:

**CARACTERIZACIÓN MORFOCULTURAL, PATOGENICIDAD Y
SENSIBILIDAD *IN-VITRO* DE HONGOS ASOCIADOS A
ANTRACNOSIS**

AUTORES:

**JOSÉ ARIEL CARREÑO TOALA
LUIS FRANCISCO SÁNCHEZ MEDRANDA**

TUTOR:

ING. ÁNGEL GUZMÁN CEDEÑO, Ph.D

CALCETA, JULIO 2020

DERECHOS DE AUTORÍA

José Ariel Carreño Toala y Luis Francisco Sánchez Medranda, declaran bajo juramento que el trabajo aquí descrito es de nuestra autoría, que no ha sido previamente presentado para ningún grado o calificación profesional, y que hemos consultado las referencias bibliográficas que se incluyen en este documento.

A través de la presente declaración cedemos los derechos de propiedad intelectual a la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López, según lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual y su reglamento.



.....
JOSÉ A. CARREÑO TOALA



.....
LUIS F. SÁNCHEZ MEDRANDA

CERTIFICACIÓN DE TUTORÍA

ÁNGEL GUZMAN CEDEÑO certifica haber tutelado el proyecto **CARACTERIZACIÓN MORFOCULTURAL, PATOGENICIDAD Y SENSIBILIDAD IN VITRO DE HONGOS ASOCIADOS A ANTRACNOSIS**, que ha sido desarrollada por **José Ariel Carreño Toala y Luis Francisco Sánchez Medranda**, previa la obtención del título de Ingeniero Agrícola, de acuerdo al **REGLAMENTO PARA LA ELABORACIÓN DE TESIS DE GRADO DE TERCER NIVEL** de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López.



.....
ING. ÁNGEL GUZMÁN CEDEÑO, Ph.D.

APROBACIÓN DEL TRIBUNAL

Los suscritos integrantes del tribunal correspondiente, que hemos **APROBADO** el trabajo de titulación **CARACTERIZACIÓN MORFOCULTURAL, PATOGENICIDAD Y SENSIBILIDAD IN VITRO DE HONGOS ASOCIADOS A ANTRACNOSIS**, que ha sido propuesta, desarrollada y sustentada por **José Ariel Carreño Toala y Luis Francisco Sánchez Medranda**, previa la obtención del título de Ingeniero Agrícola, de acuerdo al **REGLAMENTO PARA LA ELABORACIÓN DE TRABAJO DE TITULACIÓN** de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López.



.....
ING. LUIS E. PARRAGA MUÑOZ MG.

MIEMBRO



.....
ING. FREDDY W. MESÍAS GALLO,

MIEMBRO



.....
ING. GONZALO B. CONSTANTE TUBAY, MG.

PRESIDENTE

AGRADECIMIENTO

A nuestra universidad, la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López, por abrirnos las puertas y brindarnos la oportunidad de adquirir una educación superior de conocimientos éticamente profesionales día a día.

A Dios, por haber derramado bendiciones sobre nosotros en cada uno de nuestros días de vida y que nos ha dado la oportunidad de lograr llegar hasta esta meta con éxito.

A nuestros padres que han sido nuestro apoyo incondicional, nuestro motor de vida, aquellos que nos impulsaron en cada momento con amor y paciencia hacia el éxito ahora alcanzado.

A nuestro tutor de tesis el Ing. Ángel Guzmán Cedeño por habernos guiado con su sabiduría y experiencia e incondicional apoyo brindado durante este trabajo.

A nuestro cotutor, Ing. Sergio Vélez Zambrano, quien nos dio la iniciativa de este trabajo y poder llegar a un logro exitoso.

A nuestras familias, amigos, hermanos y compañeros que nos impulsaron a seguir adelante a pesar de todo los obstáculos que se nos presentaron durante el tiempo de estudio.

LOS AUTORES

DEDICATORIA

Dedicamos cada paso, cada trayectoria principiada en esta carrera, primeramente a Dios por la oportunidad de vida que nos brindó para lograr llegar hasta aquí, a todas esas imágenes celestiales que sin duda alguna te alimentan el alma en esos momentos difíciles de afrontar, a nuestros padres por habernos brindado toda su ayuda y apoyo incondicional en todos los sentidos, a nuestras familias que aportaron con ese granito de arena que faltaba para seguir adelante aquellos que confiaron en que podríamos llegar a alcanzar nuestras metas, a aquellos docentes por sus sabios conocimientos impartidos, que fueron ideales en prepararnos para obtener conocimientos concretos, a nuestro tutor y cotutor por la guía y conocimiento que nos brindaron.

LOS AUTORES

CONTENIDO GENERAL

DERECHOS DE AUTORÍA	ii
CERTIFICACIÓN DE TUTORÍA	iii
APROBACIÓN DEL TRIBUNAL	iv
AGRADECIMIENTO	v
DEDICATORIA	vi
CONTENIDO GENERAL	vii
CONTENIDO DE CUADROS	viii
RESUMEN	x
ABSTRACT	xi
CAPÍTULO I. ANTECEDENTES	1
1.1. Planteamiento y formulación del problema	1
1.2. Justificación.....	2
1.3. Objetivos	3
1.3.1. Objetivo general	3
1.3.2. Objetivos específicos.....	3
1.4. Premisa	3
CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO	4
2.1. Antracnosis (<i>Colletotrichum</i> spp) en cultivos de interés económico.....	4
2.2. Caracterización morfológica, patogénica y taxonómica de <i>Colletotrichum</i> spp.....	5
2.2.1. Caracterización morfológica	5
2.2.2. Caracterización patogénica	7
2.3.3. Caracterización taxonómica.....	8
2.3. Estrategias de control de <i>Colletotrichum</i> spp.....	9
2.3.1. Sensibilidad <i>in-vitro</i> de <i>Colletotrichum</i> spp frente a fungicidas.....	9
2.3.2. Mecanismos de evaluación del control de (<i>Colletotrichum</i> spp) en condiciones de macetas y campo.....	10
2.4. Rubros e insumos a usados en el estudio	10
2.4.1. Rubros de importancia.....	10
2.4.2. Fungicidas	12
CAPÍTULO III. DESARROLLO METODOLÓGICO	16
3.1. Ubicación.....	16
3.2. Duración.....	16
3.3. Etapas del estudio	16
3.4. Delineamiento de ensayo descriptivo y ensayos experimentales.....	18
3.4.1. Ensayo 1 (descriptivo) caracterización morfocultural	18
3.4.2. Ensayo 2: Patogenicidad	19
3.4.3. Ensayo 3: Sensibilidad <i>in-vitro</i>	20
3.4.4. Ensayo 4: Rango de hospedero.....	23
CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	26
4.2. Caracterización morfocultural de <i>Colletotrichum</i> spp	26
4.3. Crecimiento <i>in-vitro</i> de <i>Colletotrichum</i> spp aislados en diferentes frutos:	33

4.4. Patogenicidad.....	37
4.5. Sensibilidad <i>in-vitro</i>	39
4.6. Rango de hospedero	43
CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	47
5.1. Conclusiones.....	47
5.2. Recomendaciones.....	47
BIBLIOGRAFÍA.....	49
ANEXOS	59

CONTENIDO DE TABLAS Y FIGURAS

Tablas:

3.1. Aislados de <i>Colletotrichum</i> spp obtenidos de maracuyá inoculados en frutos de mango.....	24
4.1. Características morfocultural de aislados de <i>Colletotrichum</i> spp en frutos de maracuyá.....	26
4.2. Características morfocultural de aislados <i>Colletotrichum</i> spp en frutos de mango.....	29
4.3. Caracterización morfocultural de aislados <i>Colletotrichum</i> spp en frutos de papaya.....	31
4.4. Medias de crecimiento micelial de hongos obtenidos de maracuyá.....	34
4.5. Medias de crecimiento micelial de hongos obtenidos de mango.....	34
4.6. Medias de crecimiento micelial de hongos obtenidos de papaya.....	35
4.7. Medias de dosis de sensibilidad de maracuyá.....	39
4.8. Medias de inhibición de crecimiento micelial en fungicidas.....	39
4.9. Medias de dosis de sensibilidad de mango.....	40
4.10. Medias de inhibición de crecimiento micelial en fungicidas	40
4.11. Medias de dosis de sensibilidad de papaya.....	40
4.12. Medias de inhibición de crecimiento micelial en fungicidas.....	41

Figuras:

4.1 Crecimiento micelial de aislados de <i>Colletotrichum</i> spp obtenidos en maracuyá.....	34
4.2 Crecimiento micelial de aislados de <i>Colletotrichum</i> spp obtenidos en mango.....	35
4.3 Crecimiento micelial de aislados de <i>Colletotrichum</i> spp obtenidos en papaya.....	36
4.4 Síntomas en frutos de maracuyá inoculados con aislados obtenidos de lesiones de antracnosis en frutos de la misma especie.....	37
4.5 Síntomas en frutos de mango inoculados con aislados obtenidos de lesiones de antracnosis en frutos de la misma especie.....	38

4.6. Síntomas en frutos de papaya inoculados con aislados obtenidos de lesiones de antracnosis en frutos de la misma especie.....	38
4.7. Tratamientos que tuvieron menor inhibición.....	42
4.8. Fruto de mango es hospedante del patógeno que causa antracnosis en frutos de papaya.....	43
4.9. Fruto de papaya no es hospedante del patógeno que causa antracnosis en frutos de mango.....	43
4.10. Fruto de papaya no es hospedante del mismo patógeno que causa antracnosis en frutos de mango.....	44
4.11. Fruto de mango no es hospedante del patógeno que causa antracnosis en frutos de maracuyá.....	44
4.12. Fruto de mango no es hospedante del patógeno que causa antracnosis en frutos de maracuyá.....	45
4.13. Fruto de maracuyá. no es hospedante del patógeno que causa antracnosis en frutos de mango.....	45

RESUMEN

Antracnosis es una enfermedad fúngica causada por hongos del complejo *Colletrotichum* spp, para su control es importante tener en cuenta las características y la sintomatología producidas por el agente causal. Teniendo en cuenta la poca información al respecto en la zona de Manabí, este trabajo se enfocó en el estudio de características morfoculturales, patogenicidad, sensibilidad *in-vitro* y rango de hospedero de aislados de *Colletrotichum* spp obtenidos de cultivos de maracuyá, mango y papaya en los cantones de Rocafuerte, Bolívar y El Carmen pertenecientes a la provincia de Manabí. La caracterización morfológica y patogenicidad se basaron en la descripción de color, textura, y masa conidial de los aislados y la patogenicidad en la producción o no de síntomas en los frutos apoyándose en los postulados de koch, los aislados presentaron alta patogenicidad. Para las pruebas de sensibilidad *in-vitro* se utilizaron 8 fungicidas y se utilizó la concentración propuesta por el fabricante, 10% menos para la dosis baja y 10% más para la dosis alta. Todos los aislamientos fueron sensibles al propiconazol, azoxystrobin, carbendazin, tebuconazol, benomil, difeconazol mientras que existe una insensibilidad al clorotalonil y sulfato de cobre pentahidratado. En rango de hospedero se realizó una inoculación cruzada para observar su patogenicidad donde se notó una leve patogenicidad de los aislados de papaya en mango. Del estudio se concluye que la diferencia morfológica entre aislados fúngicos permite inferir que son especies diferentes del complejo *Colletrotichum* spp.

PALARAS CLAVE: Aislados, caracterización, patogenicidad, sensibilidad, *in-vitro*.

ABSTRACT

Antracnosis is a fungal disease caused by fungi of the *Colletrotichum* spp complex, for its control it is important to take into account the characteristics and symptomatology produced by the causal agent. Taking into account the lack of information in the área of Manabí, this work focused on the study of morphocultural characteristics, pathogenicity, *in-vitro* sensitivity and range of hosts of isolates of *Colletrotichum* spp obtained from passion fruit crops, mango and papaya crops in the cantons of Rocafuerte, Bolívar and El Carmen belonging to the province of Manabí. Morphological characterization and pathogenicity were based on the description of color, texture, and conidial mass of the isolates and pathogenicity in the production or not of symptoms in the fruits based on koch postulates, the isolates presented high pathogenicity. For *in-vitro* sensitivity tests 8 fungicides were used and the concentration proposed by the manufacturer was used, 10% less for the low dose and 10% more for the high dose. All insulations were sensitive to propiconazol, azoxystrobin, carbendazin, tebuconazol, benomil, difeconazol while there is an insensitivity to pentahydrate copper chlorothalonil sulfate. In the range of host was performed a cross-inoculation to observe its pathogenicity where a slight pathogenicity of the papaya isolates in mango was observed. The study concludes that the morphological difference between fungal isolates makes it possible to infer that they are different species of the *Colletrotichum* spp complex.

KEY WORDS: Isolated, characterization, pathogenicity, sensibility, *in-vitro*.

CAPÍTULO I. ANTECEDENTES

1.1. PLANTEAMIENTO Y FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

Carboni (2018) expresa que la antracnosis (*Colletotrichum gloeosporioides*) es una enfermedad grave que afecta la calidad de los productos agrícola y por ende a la economía de los productores. Este problema fitosanitario está ampliamente distribuido en todas las regiones del mundo donde se cultivan frutales. La incidencia de la enfermedad varía marcadamente en función de la susceptibilidad varietal de los frutales, las condiciones climáticas y la virulencia del patógeno. Uno de los aspectos menos conocido de la enfermedad es la identificación del patógeno.

Según Gutiérrez (2007) se ha establecido un cálculo, donde las pérdidas económicas por cada expendedor son el 30% de la cosecha; al sumar el total de esos valores, la merma es una cantidad que afecta al expendedor y el aprovechamiento de la cosecha que se vende al mercado no satisface la demanda. Al respecto, aclara que la antracnosis es considerada la principal enfermedad de frutos de papaya en postcosecha; sin embargo, la antracnosis también induce otro tipo de síntomas como el pelado del fruto, la mancha chocolate y la pudrición basal.

Acosta, Nieto & Domínguez (2003), afirman que, en distintas frutas, entre ellas la papaya, presentan diversos problemas fitosanitarios tales como plagas y enfermedades virales y fungosas de gran importancia a nivel mundial. Además, mencionan que dentro de las fungosas se señala a la antracnosis como la principal limitante fitopatológica de los frutos de papaya en postcosecha a nivel mundial, causando pérdidas del 40 al 100%. Flores, Marín & Zapata (2009) aclaran que la antracnosis es la enfermedad postcosecha responsable de las mayores pérdidas de calidad.

El género *C. gloeosporioides* es causante de muchas enfermedades prácticamente en todas las cosechas agrícolas del mundo. Los síntomas típicos de la infección se denominan 'antracnosis' que se caracterizan por el hundimiento necrosado del tejido donde se producen masas de conidias dentro de un acérvulo. La antracnosis se presenta en tejidos de plantas en desarrollo y maduros, afecta frutos durante su desarrollo en el campo, así como frutos maduros durante su almacenaje (Rodríguez,

Cárdenas, Hernández, Gutiérrez & Pere 2013).

Este hongo afecta a hojas, guías y frutos en distintos frutales. En las hojas los síntomas aparecen en los márgenes, y se manifiesta como manchas acuosas de forma circular de 5 mm de diámetro, presentan un halo de color verde oscuro; en las guías se observan lesiones alargadas; en los frutos las lesiones se presentan como depresiones o áreas hundidas con pudrición seca, causando un arrugamiento precoz del área afectada, la pudrición llega a la parte interna y finalmente el fruto cae. En las áreas necróticas se observan anillos concéntricos de puntos negros, que son las fructificaciones del hongo (García, 2010).

A nivel del Ecuador no existe mucha información de esta enfermedad en mango, maracuyá y papaya; menos aún en la provincia de Manabí (Cañizares & Jaramillo, 2015). El conocimiento adecuado de los patógenos que provocan estas enfermedades, es una necesidad de vital importancia para los cantones de Rocafuerte, Bolívar y El Carmen por ser productores de estos frutos en estudio. Por lo expuesto se plantea la siguiente pregunta ¿Cuál es la caracterización morfocultural, patogénica y la sensibilidad in vitro de los aislados de *Colletotrichum* asociados a los cultivos de mango, maracuyá y papaya?

1.2. JUSTIFICACIÓN

La antracnosis es una limitante de la vida útil de los frutos como, papaya, mango, maracuyá etc., se ha demostrado que es posible encontrar algunas especies de *Colletotrichum* causando enfermedades en un mismo cultivo (Santamaria, Díaz & Gutiérrez, 2011). Debido a esto, es necesario conocer cuáles son las especies, además de *C. gloeosporioides*, que afectan a estos cultivos, y los productos existentes en el mercado, que incidirán en el control y por ende en el manejo de la antracnosis. Olivera & Moral (2005) indican que los hongos del género *Colletotrichum* son polípagos y cosmopolitas y, dada su diversidad de estrategias de vida, posee alta complejidad taxonómica.

Por la alta diversidad de este hongo la identificación de géneros ha sido problemática, por lo que se requiere la caracterización, una eventual correlación con su grado de patogenicidad y además su sensibilidad a distintos fungicidas que existen en el

mercado (Gutiérrez, 2001). Esto permitirá desarrollar programas de investigación posteriores en temas relacionados a la resistencia y al mejoramiento genético de los frutales como maracuyá, mango y papaya.

1.3. OBJETIVOS

1.3.1. OBJETIVO GENERAL

Identificar *in-vitro* las cepas de hongos asociados a la antracnosis que afectan a los cultivos frutales de maracuyá, mango y papaya, en los cantones de Rocafuerte, Bolívar y El Carmen pertenecientes a la provincia de Manabí.

1.3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Caracterizar morfoculturalmente los aislados de *Colletotrichum* spp asociados a antracnosis en los cultivos de mango, papaya y maracuyá.
- Establecer la variabilidad patogénica de los aislados conseguidos.
- Determinar la sensibilidad *in-vitro* a fungicidas comerciales, de los aislados de *Colletotrichum* spp.

1.4. PREMISA

La antracnosis que afecta a los cultivos de maracuyá, mango y papaya en los cantones de Rocafuerte, Bolívar y El Carmen pertenecientes a la provincia de Manabí, podrían presentar varias características morfoculturales del género *Colletotrichum* y al menos uno de los fungicidas comerciales utilizados ejerce control *in-vitro* sobre el hongo.

CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO

2.1. ANTRACNOSIS (*Colletotrichum* spp) EN CULTIVOS DE INTERÉS ECONÓMICO

La antracnosis es una enfermedad que causa una muerte celular, posteriormente necrosis en las frutas, además afecta a tallos, hojas, flores, de diferentes cultivos de interés económico para los agricultores y es causada por hongos de la especie *Colletotrichum* spp (Cai *et al.*, 2009; Caires *et al.*, 2014; Silva, Chávez & Da Silva, 2017).

La antracnosis, se caracteriza por síntomas muy marcados como por ejemplo circunferencias hundidas color salmón conocida como mancha chocolate, y mostrar una esporulación color naranja (Oliveira, Barbosa & Santos, 2000; Ueno & Ferreira, 2001; Mafacioli & Tessmann, 2006 & Ferreira, Andrade, Uesugi & Ueno, 2007).

Afecta una amplia variedad de frutas entre ellas la maracuyá (*Passiflora edulis* L) o la fruta de la pasión como también se la conoce, es popular en todo el mundo, Manabí tiene la mayor cantidad de hectáreas sembradas con este cultivo en el Ecuador (Cañizares & Jaramillo, 2015). Los síntomas típicos en maracuyá son lesiones hundidas con esporulación naranja en el centro, también se puede observar en las magulladuras parte de los acérvulos (setas) puntos de color negro (Tozze, Fischer & Camarado, 2010). Cabe recalcar que *P. edulis* L, no solo es afectada en los frutos sino además en los zarcillos provocando una necrosis, posterior muerte del zarcillo y en las hojas el síntoma son puntos rojizos en forma de hendiduras en el haz de la hoja (Castro, 2009).

Así mismo la papaya (*Carica papaya* L) es otro de los cultivos más afectados por la antracnosis, se ha considerado a *C. gloeosporioides* como agente causal (Weir, Johnston & Damm, 2012). La antracnosis prácticamente está en todas las áreas donde se siembra papaya.

La característica principal son los anillos concéntricos color salmón que le causa al fruto y su esporulación color naranja (Pérez, Saquero & Beltrán, 2003). Para la inoculación los factores favorables pueden ser cualquier condición de estrés que

tenga el fruto ya que esto favorece a ser susceptible a la enfermedad, temperaturas entre 18 y 29°C y su germinación se asegura con una humedad relativa de 97% con menos de esto es mínima la germinación (Kader, 2011).

Otro ejemplo de afectación con antracnosis ocurre en mango (*Mangifera indica* L), considerado uno de los cultivos tropicales más importantes del mundo, no está exento de enfermedades y una de estas es la antracnosis que afecta a hojas, provoca la caída de inflorescencia y lesiona frutos pre y post cosecha (Rebouca, 2002; Benítez, Huerta, Holguín & Toledo, 2003 y Bruwer, Legadec & Kohne, 2006).

La agresividad de este patógeno se manifiesta en los brotes tiernos (hojas, inflorescencias y frutos) en los periodos propicios como son los de alta precipitación y humedad (Galán, 2009). Según Carrillo (2005) la antracnosis puede ocasionar la caída prematura de flores y frutos, otra vez la enfermedad puede quedarse en latencia y presentarse cuando el fruto empieza a madurar fisiológicamente, cuando esto sucede el fruto muestra lesiones color café que reflejan la necrosis de células y la descomposición del fruto.

2.2. CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA, PATOGENICA Y TAXONÓMICA DE *Colletotrichum* spp

La identificación de las especies de *Colletotrichum* spp es primordial, con esto se puede conocer la epidemiología, la resistencia a fungicidas, la patogenicidad y en estudios más profundos la variabilidad genética mediante la extracción y análisis filogenéticos del ADN (Kurozawa & Pavan, 2005 y Silva *et al.*, 2017).

Butt & Copping (2000) afirman que la convergencia de distintas especies o sub especies de un hongo hacia un mismo huésped dificulta la tarea de control, por lo expresado existe una focalización primero, a la caracterización morfológica, patogénica y taxonómica de *Colletotrichum* resultando esto fundamental para estrategias de control.

2.2.1. CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA

- **AISLAMIENTO Y PURIFICACIÓN DEL HONGO**

El aislamiento del patógeno se acondiciona en el laboratorio, con fragmentos de tejidos cortados en el límite de las heridas (Agostini, Timmer & Mitchell, 1992 y Cedeño, Mohali & Palacios, 1994).

Mondino, Descargado, Alaniz, Hernández & Damasco (2012) recomiendan que para el aislamiento se deben tomar porciones pequeñas del área necrosada o enferma que muestren síntomas, por lo general es recomendable extraer de la zona de avance del patógeno para aumentar las posibilidades de tener un aislamiento exitoso. Los fragmentos posteriormente deben ser llevados a un proceso de desinfección, en una solución de hipoclorito de sodio con una concentración de 0,525% durante 5 min conforme lo sugerido por Agostini *et al.* (1992) y Cedeño *et al.* (1994).

Luego de obtener los aislamientos, cada colonia debe mantenerse en un medio de cultivo PDA, realizando repiques las veces que sea obligatorio. Para la obtención de cultivos puros se debe inocular o introducir, una sola célula o propágulo de un microorganismo en un medio sólido o líquido esterilizado previamente, luego de este proceso los aislamientos serán caracterizados morfológicamente de forma macro y microscópica (Sutton, 1992). Mondino *et al.* (2012) recomienda identificar con seguridad el hongo antes de la purificación porque en algunos casos crecen hongos de otras especies que no son de interés.

- **DESCRIPCIÓN MORFOLÓGICA**

Proverbialmente, diferenciación entre especies de *Colletotrichum* spp se ha sustentado en el tamaño y forma de la conidia, el crecimiento del micelio, el tipo de apresorio, rango de hospedero y la patogenicidad de los aislados que son características morfológicas y culturales (Mendiratta, Thamke, Shukla & Narang, 2005).

Un ejemplo claro de esto es *Colletotrichum gloeosporioides* una especie de *Colletotrichum* spp su nombre que se sugirió por primera vez en Pieńsk al suroeste de Polonia en el año 1882, apoyado en *Vermicularia gloeosporioides*, cuyo ejemplar tipo se recolectó de cítricos en Italia (Orozco, Guzman, Farias & Timmer, 2004 y Damm *et al.*, 2012).

Colletotrichum gloeosporioides tiene un lento crecimiento *in-vitro*, presentan una coloración gris y una masa micelial color naranja a diferencia de *C. acutatum* que presenta un color blanco grisáceo manifestado por Rodríguez, Gonzáles & Mayek (2009).

Se debe evaluar la velocidad de crecimiento, patrón de crecimiento, tipo de micelio, y color de colonia, en medio de cultivo PDA, además se debe llevar un registro del crecimiento de las colonias diariamente (Villanueva *et al.*, 2005).

2.2.2. CARACTERIZACIÓN PATOGENICA

La temporada lluviosa es óptima para la proliferación de *Colletotrichum* spp acompañada de una humedad relativa alta (>80%) (Talhinhas, Sreenivasaprasad, Olivera, Molecular & Phenotypic, 2005). Temperatura de 20 a 28°C es el escenario perfecto para la inoculación del patógeno (Freeman, Katan & Shabi, 1996).

Perfect, Hughes, O`Connell & Gree (1999) manifiestan que uno de los aspectos importante del patógeno es su forma de inoculación. Rodríguez *et al.* (2009) acotan que una de las formas que *Colletotrichum* spp utiliza para inocular es la deposición en la superficie del hospedante, seguida de la fijación de la conidia en la superficie, para la siguiente etapa las condiciones ambientales son fundamentales ya que estas deben asegurar la germinación de la conidia, posteriormente se produce el apresorio que permitirá la alimentación del patógeno, penetración de epidermis, colonización del tejido del hospedante y por ultimo producción de acérvulos y esporulación.

Según Bailey, O`Connell, Pring, & Nash (1992), la antracnosis se presenta en dos fases principales que son la fase biotrófica donde se alimenta de células vivas del hospedero, y una fase necrotrofica tardía, que se alimenta de células muertas que se producen debido a la primera fase donde fue el establecimiento del patógeno, asegurándolo sin dañar severamente al tejido vegetal. En la fase biotrófica se restringe la expresión de enzimas que degraden las paredes celulares del hospedero, esto no permite que el huésped reconozca al patógeno, y limita la respuesta de defensa de la planta.

En la fase necrótica es donde se pueden apreciar los síntomas de la antracnosis, porque hay mucha más secreción de enzimas que en la fase uno y esto produce

muerte celular y descomposición (Centis, Guillas & Sejalon, 1997 y Perfect *et al.*, 1999).

Para Hartung, Burton & Ramsdell (1981) la patogenicidad puede depender del tipo de cepa y como ésta interactúa con el genotipo del hospedero, el ambiente, o también de la secreción de enzimas del hongo. Por ejemplo, falta de poda no permite la aireación, el distanciamiento de siembra, dosis de fungicidas erróneas o aplicaciones a destiempo (Arango, 1993; Páez, 1997; Saldarriaga, Bernal & Tamayo, 1997; Campo, Escobar, López, Cepeda & Lorriana, 2015).

Un aspecto importante a tomar en cuenta en la patogenicidad de *Colletotrichum* es el rango de hospedero, conocido en término general como el rango de huéspedes de diferentes especies vegetales que el patógeno puede infectar. Pero para que esto sea viable debe ser estable y permanente. El rango de hospedero es una de las características que permiten la identificación y establecimiento de la relación que existen entre patógenos, además de conocer huéspedes que permiten que el patógeno sobreviva en otro ambiente. Es muy importante conocer el rango del hospedero cuando se describen nuevos aislamientos porque puede señalar nuevas especies o subespecies (Garrido & Trujillo, 1988).

2.2.3. CARACTERIZACIÓN TAXONÓMICA

Colletotrichum vislumbra el estado sexual (anamorfo) de *Gromerella* (teleomorfo), el cual pertenece al *Phyllum ascomycota*, clase Hypocreomycetidae, orden Glomerellales, familia Glomerellaceae. Glomerellaceae es una familia monotípica caracterizada por peritecios oscuros no estromáticos, ostiolos perifisados bien desarrollados, abundantes paráfisis de pared delgada. *Glomerella* inicialmente se ubicó en el orden Phyllacorales, lo que la hace distinta a otros miembros es su falta de tejido estromático y sus anamorfos exclusivos de *Colletotrichum* (Zhang *et al.*, 2006).

Colletotrichum es un género confuso taxonómicamente, debido a que existe variación del nombre del género de acuerdo a su estado sexual; en el año 2012, los miembros de la Subcomisión Internacional de Taxonomía de *Colletotrichum* (ISTC) afirmaron el uso del término *Colletotrichum* sobre el de *Glomerella* derivado de su mayor uso en

ciencias aplicadas; lo que dio la expectativa de generar menores cambios taxonómicos en las especies de ese género.

2.3. ESTRATEGIAS DE CONTROL DE *Colletotrichum* spp

Existen diversas alternativas de control para *Colletotrichum* spp debido a que la estrategia más común, los plaguicidas, han causado resistencia en los organismos patógenos. El uso de aire caliente, tratamientos hidrotérmicos, atmósferas modificadas son métodos de control del patógeno en precosecha y poscosecha (Karabulut & Baykal, 2004; Gutiérrez, Nieto, Téliz, Zavaleta & Delgadillo, 2004 y Ragazzo *et al.*, 2015), luz ultravioleta, ozono (Cia *et al.*, 2009).

Extractos de plantas y microorganismos o agentes de control biológico que actúan como antagonismo contra diversos patógenos como *Rodhotorula minuta*, *Bacillus subtilis*, *Trichoderma* spp, por mencionar algunos (Janisiewicz & Korsten, 2002 y Spadaro & Gullino, 2004).

El control de *Colletotrichum* spp con mayor eficacia es mediante el uso de productos químicos sintéticos (Landeró, Lara, Hoyos, Aguilar & Rodríguez, 2016). Se utilizan métodos de prevención como productos cúpricos y cuando la enfermedad ya está en las plantaciones se opta por los productos químicos, un ejemplo de productos que se pueden utilizar para el control de la antracnosis en *P. edulis* son mancozeb, benomyl, clorotalonil, entre otros productos (Salazar, 1998).

2.3.1. SENSIBILIDAD *IN-VITRO* DE *Colletotrichum* spp FRENTE A FUNGICIDAS

El modo de acción del ingrediente activo de los fungicidas tiene una limitada eficacia porque los patógenos ya crearon resistencia; esto es muy común ya que los agricultores no varían o rotan los productos fúngicos que usan para el control de hongos y por ende a estos patógenos le es más fácil crear un mecanismo de defensa. La sensibilidad *in-vitro* consiste en someter al patógeno a distintos fungicidas e identificar a cuál ofrece resistencia (Zapata & Cardona, 2012).

Una de las elecciones más utilizadas en el control de esta enfermedad son los tratamientos físicos y químicos, los químicos pueden originar resistencia en el

patógeno tanto como otros a la salud humana y el medio ambiente deteriorando el producto en cuanto al sabor, olor, y manchas. Por ende, se puede utilizar extractos de plantas con propiedades fungicidas o fungistáticas como una alternativa más en el control de dicha enfermedad (Salcedo, 2007).

2.3.2. MECANISMOS DE EVALUACIÓN DEL CONTROL DE (*Colletotrichum* spp) EN CONDICIONES DE MACETAS Y CAMPO

❖ CONTROL QUÍMICO (FUNGICIDAS)

En la actualidad se cuenta con un amplio espectro de fungicidas, sistémicos que actúan interrumpiendo el desarrollo del agente causante de la enfermedad a diferencia de los fungicidas de contacto que forman una barrera protectora en la planta dependiendo de su mecanismo de acción, muchos fungicidas previenen la germinación de esporas o matan la espora antes de germinar (Tabares, 2002). Los fungicidas se pueden utilizar en pequeñas parcelas, macetas o miles de hectáreas utilizando la dosis adecuada de acuerdo con Ochoa (2004).

❖ CONTROL BIOLÓGICO

Según Ríos (2010) el control biológico es la reducción de la densidad o de las actividades productoras de enfermedades de un parásito o patógeno, en su estado durmiente o activo lograda de manera natural o mediante la manipulación del ambiente, del hospedero o antagonista del patógeno o la plaga que se desee controlar. Necesariamente se deben integrar diferentes técnicas de control para obtener control biológico de mayor efectividad.

Además, menciona que el uso de microorganismos antagonistas (hongos endófitos) es una de las alternativas para el control biológico, evitando el uso de químicos persistentes. Los géneros *Bacillus*, *Pseudomonas* y *Trichoderma* han sido involucrados en los estudios de control biológicos frente a *C. glosperoides*.

2.4. RUBROS E INSUMOS A USAR EN EL ESTUDIO

2.4.1. RUBROS DE IMPORTANCIA

❖ MARACUYÁ (*Passiflora edulis* L)

Bernacci, Soares, Junqueira, Passos & Meletti (2008) determinan que *Passiflora edulis* L, conocida como fruta de la pasión originaria de Brasil, tiene distintos nombres comunes (como fruta de la pasión amarga, fruta de la pasión amarilla, fruta de la pasión negra y fruta de la pasión púrpura), y presenta una extensa variabilidad con los diferentes colores de cáscara de sus frutas, que son muy fáciles de notar.

Continúan señalando que la fruta de la pasión amarilla tuvo su origen en Australia a través de la reproducción, llamándola *P. edulis* L, forma *flavicarpa*, y que podría distinguirse por el color de la fruta, el tono más profundo púrpura de la corona, y el aspecto de glándulas en los sépalos. Estas distinciones no se consienten, ya que las glándulas son usuales a la especie (pueden no estar presentes), y la corona tiene una extensa gama de colores, independientemente del color de la fruta. Para caracterizar adecuadamente los cultivares de maracuyá dentro de la especie. *P. edulis* L. A nivel taxonómico, *Passiflora edulis* Sims se debe usar para cualquier planta y color de frutas de la pasión ácida, en combinación con un nombre de cultivar para los materiales seleccionados.

En Ecuador, en las regiones subtropicales, la producción de parchita o maracuyá es en la época de verano; sin embargo, se da durante todo el año, si bien se destaca la cosecha entre abril-septiembre y diciembre-enero, donde los niveles de producción son superiores, la cosecha de los frutos se realiza de forma manual y en sacos. Los frutos caen de manera natural y deben ser recolectados cada 2 semanas, pero mientras más frutos caigan, mayor debe ser la frecuencia de recolección. La mayor superficie cultivada de maracuyá se encuentra localizada en la franja costera del país, que corresponde a las provincias de Esmeraldas, Manabí, Guayas, El Oro y Santo Domingo (Cañizares & Jaramillo, 2015).

❖ **MANGO** (*Mangifera indica* L)

El cultivo de mango en Ecuador cubre un área aproximada de 7700 hectáreas, con las siguientes variedades exportables: Tommy Atkins (65%), Ataulfo, Haden, Kent y Keitt disponibles de septiembre a diciembre (Checa, 2018).

Mangifera indica L, es el miembro más importante de los Anacardiaceae o familia del marañón. Tiene algunos parientes bien conocidos, tales como el marañón (*Anacardium occidentale* L.), el pistachero (*Pistacia vera* L), los mombins (*Spondias*

spp.), y la familiar hiedra venenosa o roble venenoso de Norteamérica (*Rhus toxicodendron* L, o *Radicans* L.), entre otros. De acuerdo con la clasificación taxonómica es de reino-vegetal, clase-dicotiledónea, sub-clase rosidae, orden-sapindales, sub orden-anacardinae, familia-anacardaceae, género-*mangifera*, especie-*indica*, nombre científico-*magifera indica*, nombre vulgar-mango (Carreño & Nocua, 2011).

Antracnosis, aparece como una enfermedad postcosecha de las frutas maduras durante el almacenamiento. En ocasiones implementar medidas de control resulta difícil por la convergencia en un mismo hospedante de varias especies o subespecies de hongos del género *Colletotrichum* y la gran variedad de formas morfológicas de estas en relación con las variaciones ambientales (Valdés *et al.*, 2017).

❖ **PAPAYA** (*Carica papaya* L)

Las variedades de papayas hawaianas son encontradas comúnmente en supermercados, poseen formas de pera (periformes), pesan cerca de una libra cada unidad y tienen generalmente cáscara amarilla en su estado inmaduro, la pulpa es anaranjada o rosado brillante, sus semillas son negras y pequeñas arracimadas hacia el centro (Benavides, 2016).

Además, este autor señala que esta fruta pertenece a la familia de las Papayáceas Cucurbitáceas. Es una planta frutal legítima del trópico. Puede ser de color amarillo, naranja o rojo; es estable y de sabor dulce en las principales variedades comerciales. La forma, el tamaño, el color y el sabor del fruto varían considerablemente dependiendo de la variedad. Las papayas se conocen por varios nombres: Papaya, lechosa, mamoneiro, zapote y fruta bomba. La papaya es originaria de América Tropical (de México o Centroamérica), aunque actualmente se la localiza distribuida en los trópicos y subtrópicos del mundo.

2.4.2. FUNGICIDAS

❖ **AZOXYSTROBIN**

Azoxystrobin tiene la capacidad de inhibir la respiración mitocondrial de las células de los hongos, al impedir la transferencia de electrones entre el citocromo b y el c1,

evitando así la formación de energía (ATP) necesario para su crecimiento y desarrollo, es un potente inhibidor de la germinación de esporas y de los estadios iniciales en el desarrollo de hongos (Syngenta, 2018).

❖ **DIFENOCONAZOLE**

Difenoconazole es un inhibidor de la demetilación del esterol, Inhibe la biosíntesis del ergosterol de las membranas celulares, deteniendo el desarrollo de los patógenos; actúa primordialmente en el desarrollo de las hifas secundarias del patógeno dentro de los tejidos de la planta, pero también lo hace en menor escala sobre el desarrollo y la virulencia de las conidias de los hongos (Syngenta, 2018).

❖ **PROPICONAZOLE**

Propiconazole es un fungicida sistémico que tiene acción protectora y curativa, actúa por medio de la inhibición de la biosíntesis del ergosterol. Propiconazole es absorbido por vía foliar y traslocado acrópetamente a través del xilema al resto de la planta (RIMAC, 2015).

❖ **CARBENDAZIM**

Es un fungicida sistémico formulado como suspensión concentrada, de efecto preventivo y/o curativo, indicado para pulverización o baño de inmersión en diversos cultivos indicados en la etiqueta, tanto en plantas como en post-cosecha, para el control de hongos durante el almacenamiento (INSUAGRO, 2017).

❖ **SULFATO DE COBRE PENTAHIDRATADO (SCP)**

Cajas (2016) determina que sulfato de cobre pentahidratado es de acción biocida (alguicida, fungicida, insecticida, molusquicida, bactericida) su modo de acción es de forma sistémica, protector de contacto y curativo, se absorbe por hojas y raíces y se transporta vía floema y xilema, es estable en medios alcalinos forma óxido de cobre. Es pasivamente absorbido por las esporas de los hongos y bacterias mientras crecen, una vez absorbido, desactiva los sistemas enzimáticos de los organismos patógenos.

❖ **DIFECONAZOLE**

Difeconazole es un fungicida de contacto y sistémico, con actividad preventiva, curativa y erradicante. Es absorbido rápidamente por las partes verdes de la planta. El movimiento en el interior de las hojas y ápices vegetativos es esencialmente traslaminar y la traslocación acrópeta. Como otros triazoles, su modo de acción consiste en la inhibición de la biosíntesis del ergosterol actuando principalmente sobre la desmetilación del C14, DMI. No actúa sobre la germinación de las esporas ni sobre la formación de los apresorios o sobre las hifas. Impide significativamente el crecimiento subcuticular del micelio y el desarrollo de los síntomas de la enfermedad (Reuveni & Sheglov, 2002).

❖ **CHLOROTHALONIL**

Chlorothalonil derivado del ácido cloroisoftálico con actividad fungicida, de amplio espectro, de aplicación foliar, no sistémico, con limitada capacidad de traslocación local, actividad por contacto y acción preventiva y erradicante sobre numerosas enfermedades de origen fúngico, presentado en forma de suspensión concentrada autosuspensible que resulta efectiva en el control preventivo de alternariosis, antracnosis, botritis, chancros, helmintosporiosis, mildius, momificados, moteados, septoriosis y otras enfermedades producidas por hongos endoparásitos (Reuveni & Sheglov, 2002).

❖ **BENOMIL**

Álvarez (1991) determina que es un fungicida sistémico de absorción radical y foliar, traslocación principalmente acrópeta y actividad fungicida por contacto: preventiva y curativa, presentado en forma de polvo humectable para aplicar en aspersión foliar. Resulta eficaz en el control preventivo y curativo de alternariosis, cenicillas, negrillas o fumaginas, fusariosis, manchas foliares, moho gris, verticiliosis y otras enfermedades de origen fúngico.

❖ **TEBUCONAZOLE**

Afirma Bayer (2017) que tebuconazole es un ingrediente activo perteneciente al grupo de los triazoles, concede una particular efectividad y rapidez de acción, evidenciando desarreglo en el metabolismo de los hongos susceptibles. Su modo de acción es sistémico acropetal con acción preventiva, curativa y erradicativa. Su alta sistemía le

permite una rápida penetración y movimiento en el tejido vegetal en donde se distribuye uniformemente. Detiene drásticamente las estructuras de las paredes celulares y el crecimiento del tubo germinativo, los haustorios y demás órganos de fijación, inhibiendo la biosíntesis del ergosterol y otros procesos enzimáticos de los hongos.

CAPÍTULO III. DESARROLLO METODOLÓGICO

3.1. UBICACIÓN

La presente investigación se realizó en el laboratorio de Biología Molecular de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López [ESPAM MFL], ubicado en el sitio El Limón, parroquia Calceta, cantón Bolívar, provincia de Manabí, situado geográficamente entre las coordenadas 0°49'23'' Latitud Sur; 80°11'01'' Longitud Oeste y una altitud de 15 msnm.¹

3.2. DURACIÓN

El presente estudio tuvo una duración de 6 meses.

3.3. ETAPAS DEL ESTUDIO

El estudio constó de dos etapas: la primera. -Fue la obtención de los aislados de *Colletotrichum* spp y la segunda. – Consistió en realizar ensayos que tuvieron como finalidad la caracterización morfológica, patogénica, rango de hospedero y de sensibilidad de los aislados:

ETAPA 1. OBTENCIÓN DE LOS AISLADOS

- **RECOLECCIÓN DE FRUTOS INFECTADOS**

Esta fase fue de manera exploratoria donde se recorrieron localidades de la provincia de Manabí que contaban con los cultivos de interés en el estudio Rocafuerte (Papaya), Bolívar (mango) y El Carmen (maracuyá) cuyos frutos presentaban síntomas de antracnosis. Después de identificado el fruto infectado se procedió a guardarlos en una funda plástica con su respectiva etiqueta, posteriormente se llevó a procesar al laboratorio, de acuerdo a las recomendaciones sugeridas por INTA (2017).

¹ Datos tomados en la estación meteorológica del INANMI, situada en la ESPAM MFL, correspondiente al periodo, enero 2011 febrero 2019.

- **DESINFECCIÓN DE LA MUESTRA**

Primero se desinfectaron los frutos lavándolos con agua y jabón líquido, después se secaron con servilletas o toallas absorbentes, para proceder a retirar una capa de tejido entre el epicarpio y mesocarpio para obtener pequeños pedazos con una medida de (1 cm x 1 cm) del tejido adyacente al punto de la lesión, de acuerdo a procedimientos sugeridos por Larran, Vera & Dal Bello (2011). Luego fueron cortados de forma diminuta (0,05 cm x 0,05 cm) y pasar por un proceso de desinfección especial con alcohol al 70% e hipoclorito de sodio 2%, cada muestra se sumergió un minuto en cada solución, luego se sometió a tres lavados con agua destilada, para su posterior secado se colocaron en caja Petri (90 mm Ø) con papel toalla esterilizada y fueron llevados a la cámara de flujo laminar, según recomendaciones de Mazzoni & Peixoto (2016).

- **SIEMBRA DEL AISLADO**

El medio que se utilizó es el PDA (papa dextrosa agar) con una concentración de 39 g/L de agua previamente autoclavado, la dispensación del medio y la siembra de los aislados se hicieron en la cámara de flujo laminar para evitar una contaminación de agentes externos. Se sembraron 4 aislados por caja Petri en orientación a los puntos cardinales, luego se sellaron las cajas con plástico adherente, y por último se ubicaron en un lugar a temperatura ambiente $25^{\circ}\text{C}\pm 4$ y un periodo de alternancia de luz y oscuridad de 12 horas según sugerencias de Acosta *et al.* (2003), Larran *et al.* (2011) y Mazzoni & Peixoto (2016).

- **PURIFICACIÓN DEL AISLADO**

Cada 24 horas se observaron el crecimiento de los hongos y se identificaron los hongos de interés (*Colletotrichum* spp) para aislarlo nuevamente en otra caja con medio PDA + antibiótico (gentamicina, ampicilina) para evitar contaminantes externos (bacterias). De esta manera se obtuvieron los hongos de interés purificados en su totalidad. Este proceso se puede repetir varias veces, si se presenta cualquier anomalía.

ETAPA 2. CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA, PATOGENICA, RANGO DE HOSPEDERO Y DE SENSIBILIDAD DE LOS AISLADOS

3.4. DELINEAMIENTO DE ENSAYO DESCRIPTIVO Y ENSAYOS EXPERIMENTALES

3.4.1. ENSAYO 1 (DESCRIPTIVO) CARACTERIZACIÓN MORFOCULTURAL

Luego de tener el hongo purificado, se procedió a sembrarlo nuevamente en medio PDA utilizando un sacabocado, para tener una medida exacta del tamaño del disco que se sembraron, a temperatura ambiente. Después del día de la siembra identificamos un norte en la caja Petri y con un calibrador vernier se midió de manera horizontal y vertical cada 24 horas, hasta que el hongo complete el 100% de su crecimiento, metodología recomendada por Mondino *et al.* (2012). Los datos fueron expresados en milímetros, y el índice de velocidad de crecimiento micelial (IVCM) fue calculado por la fórmula 3.1 (Días, Pozza, Abreu, & Miranda, 2005).

$$IVCM = \frac{\sum(D-Da)}{N} \quad (3.1)$$

Siendo: IVCM = índice de velocidad de crecimiento micelial; D = diámetro medio actual; Da = diámetro medio anterior; N = número de días después del repicado.

- **VARIABLE PREDICTORA:**

- a. Aislados de *Colletotrichum* spp

Fueron 10 aislados de *Colletotrichum* spp previamente seleccionados y purificados de cada especie de fruta (maracuyá, mango y papaya).

- **MATERIAL Y MEDIO A EMPLEAR**

Se emplearon cajas de Petri de 90 mm, que contenían 20 mL de medio PDA. Esto se aplicó para los tres diferentes aislados de especies de frutas (mango, maracuyá y papaya).

- **VARIABLE RESPUESTA**

Mediante la observación se describieron las características de los aislados obtenidos como velocidad de crecimiento micelial, color, textura, esporulación, tomándose criterios de Tozze *et al.* (2010).

Color de la colonia	Características de la conidia	Masa conidial	Crecimiento micelial
Blanca	Afelpado	+	
Grisácea	Ligeramente afelpado		
Blanca-grisácea	No afelpado	-	
Salmón			
Blanca con puntos grises			

Características culturales y morfológicas de aislados de *Colletotrichum* spp (Tozze *et al.*, 2016).

3.4.2. ENSAYO 2: PATOGENICIDAD

Número de tratamientos	Aislados de (<i>Colletotrichum</i> spp)	Códigos
T1	A1	T1A1
T2	A2	T2A2
T3	A3	T3A3
T4	A4	T4A4
T5	A5	T5A5
T6	A6	T6A6
T7	A7	T7A7
T8	A8	T8A8
T9	A9	T9A9
T10	A10	T10A10

Se infectaron frutos sanos con los aislados obtenidos, con palillos se extrajeron el hongo de la caja Petri y se inocularon la fruta, luego se lo conservaron en una cámara húmeda hecha con una funda y una toalla de papel humedecido con agua destilada. Cuando muestre la patogenicidad se la midió con un calibrador vernier para compararlo con el testigo, método propuesto por Georgi (1993).

- **FACTOR EN ESTUDIO:**

- a. Aislados de *Colletotrichum* spp

- **TRATAMIENTOS**

- **UNIDAD EXPERIMENTAL**

Cada unidad experimental estuvo constituida por un fruto sano, (maracuyá, mango, y papaya), que fue inoculado con el respectivo patógeno aislado. Se empleo el método del palillo (palillos de madera) propuesto por Cruciol & Costa (2017).

- **DISEÑO EXPERIMENTAL**

Se empleo un diseño completamente al azar y tres réplicas.

Esquema del ADEVA

FV	GL
Total	29
Tratamientos	9
Error	20

- **VARIABLE RESPUESTA**

La variable respuesta fue síntomas en los frutos sanos, mediante el método de observación con una escala siendo 0 la no manifestación de síntoma y 3 una sintomatología pronunciada, escala modificada por Brenes (1983). Esto se replicó en los tres frutos que conforman la unidad experimental.

3.4.3. ENSAYO 3: SENSIBILIDAD *IN-VITRO*

- **SENSIBILIDAD *IN-VITRO***

Del resultado obtenido en la prueba de patogenicidad se seleccionó el aislado más agresivo y se lo sometió a una prueba con 8 fungicidas y 3 dosis distribuidos en un diseño DCA. El diseño contó con 8 fungicidas, 3 dosis, y 4 réplicas por tratamiento. Los fungicidas se escogieron de acuerdo a su ingrediente activo, las dosis que se utilizaron fueron las que recomienda la etiqueta del envase, una de ellas fue considerada dosis media; a partir de allí se establecieron una dosis baja y un alta ± 2 mL. Se midió el crecimiento del hongo con un calibrador vernier para conocer si existía resistencia frente a fungicidas e ingredientes activos, metodología propuesta por Sartorato (2006).

- **FACTORES EN ESTUDIO**

Fungicidas (D)

Dosis (F)

- **NIVELES**

Fungicidas (D)

- d1.** Benomil
- d2.** Difeconazol
- d3.** Clorotalonil
- d4.** Sulfato de cobre pentahidratado (SCP)
- d5.** Azoxystrobin
- d6.** Propiconazol
- d7.** Carbendazin
- d8.** Tebuconazol

Dosis (F)

- f1.** Dosis baja
- f2.** Dosis media
- f3.** Dosis alta

- **TRATAMIENTOS**

Nº Tratamiento	Código	Descripción	
		Fungicida	Dosis mL
1	F1D1	BENOMIL	0,08
2	F1D2		0,1
3	F1D3		0,12
4	F2D1	DIFECONAZOL	0,04
5	F2D2		0,06
6	F2D3		0,08
7	F3D1	CLOROTALONIL	0,03
8	F3D2		0,05
9	F3D3		0,07
10	F4D1	SULFATO DE COBRE PENTAHIDRATADO (SCP)	0,04
11	F4D2		0,06
12	F4D3		0,08
13	F5D1	AZOXYSTROBIN	0,06
14	F5D2		0,08
15	F5D3		0,1
16	F6D1	PROPICONAZOL	0,06
17	F6D2		0,08
18	F6D3		0,1
19	F7D1	CARBENDAZIN	0,06
20	F7D2		0,08
21	F7D3		0,1
22	F8D1	TEBUCONAZOL	0,06
23	F8D2		0,08
24	F8D3		0,1

- **UNIDAD EXPERIMENTAL**

Cada unidad experimental estuvo constituida de una caja Petri de 90 mm, que contenía 20 mL de medio PDA y una dosis de fungicida. Este mismo diseño se lo aplicó para los tres diferentes aislados de especies de frutas (mango, maracuyá y papaya).

- **DISEÑO EXPERIMENTAL**

Se empleó un Diseño Completamente al Azar en arreglo factorial AxB y cuatro réplicas. Se trabajó con el aislado que demostró un crecimiento más agresivo en la

caracterización morfo cultural para enfrentarlo a 8 fungicidas y tres dosis diferentes, el ensayo se replicó con cada especie de fruta estudiada.

Esquema del ADEVA

FV	GI
Total	95
Tratamientos	23
Error	72
Fungicidas (F)	7
Dosis (D)	2
FxD	14

- **VARIABLE RESPUESTA**

Para la toma de datos de esta variable se la realizo con un calibrador Vernier, el diámetro (en dos posiciones perpendiculares) de las colonias evaluando diariamente, los datos fueron expresados en milímetros, y el índice de velocidad de crecimiento micelial (IVCM) fue calculado por la fórmula (Días *et al.*, 2005)

$$IVCM = \frac{\Sigma(D - Da)}{N}$$

Siendo: IVCM = índice de velocidad de crecimiento micelial; D = diámetro medio actual; Da = diámetro medio anterior; N = número de días después del repicado

3.4.4. ENSAYO 4: RANGO DE HOSPEDERO

Frutos sanos de las especies en estudio fueron infectados con los 10 aislados de *Colletotrichum* spp obtenidos en la fase 1 de este trabajo, esta infección se realizó de manera cruzada (Tabla 3.1), para conocer el rango de hospedero de cada patógeno, según lo sugerido por Garrido & Trujillo (1988) y Cruciol & Costa (2017).

- **FACTOR EN ESTUDIO**

Aislados de *Colletotrichum* spp

- **TRATAMIENTOS**

Tabla 3.1. Aislados de *Colletotrichum* spp obtenidos de maracuyá inoculados en frutos de mango.

Número de tratamientos	Aislados de (<i>Colletotrichum</i> spp) de maracuyá.	Fruto sano de mango
T1	A1	1
T2	A2	2
T3	A3	3
T4	A4	4
T5	A5	5
T6	A6	6
T7	A7	7
T8	A8	8
T9	A9	9
T10	A10	10

Esta forma de asignación de variantes se empleó con los otros frutos en estudio.

- **UNIDAD EXPERIMENTAL**

Cada unidad experimental estuvo constituida por un fruto sano, (maracuyá, mango y papaya).

- **DISEÑO EXPERIMENTAL**

Se empleó un Diseño Completamente al Azar y tres réplicas.

Esquema del ADEVA

FV	GL
Total	29

Tratamientos	9
Error	20

- **VARIABLE RESPUESTA**

Se analizó si los aislados producían síntomas en los frutos sanos de la otra especie mediante la observación, se empleó una escala de 0 para la no manifestación del síntoma y de 3 para una sintomatología pronunciada, escala modificada por (Brenes, 1983).

CAPITULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los aislados de los cuales se van a describir los resultados pertenecen al género *Colletotrichum* spp, se logró determinar el agente causal dando cumplimiento a los postulados de Koch (Volcy, 2008).

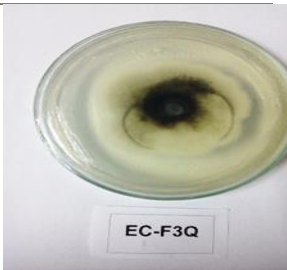
4.2. CARACTERIZACIÓN MORFOCULTURAL DE *Colletotrichum* spp

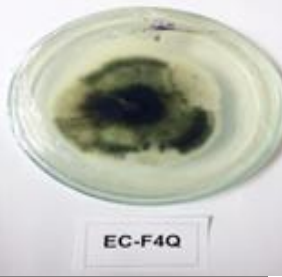
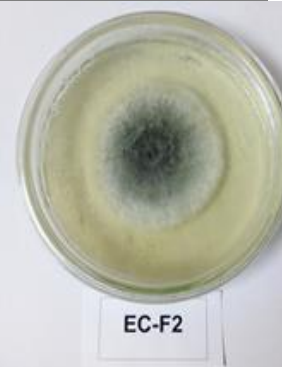
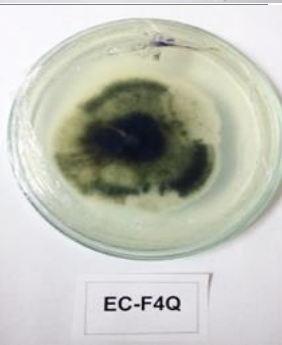
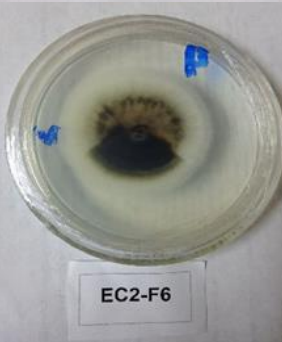
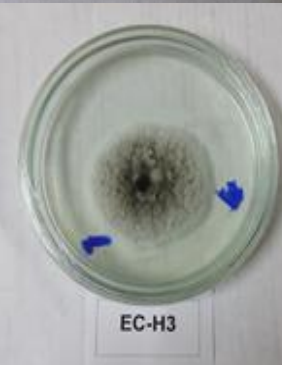
AISLADOS EN DIFERENTES FRUTOS:

- Maracuyá

Los aislados estudiados de maracuyá tuvieron características diversas; en relación al color, predominó el gris (EC2-F4), una mezcla de gris y blanco (EC-F4, EC-H3, EC-F4Q) y gris en el centro, blanco en la periferia (EC-F3Q, EC-F3Q4, EC-F2, EC-F3Q2); en lo relacionado a textura, el 60% de aislados presentó características afelpadas (EC-F3Q, EC-F3Q4, EC-F4Q, EC2-F6, EC2-F7, EC-F3Q2) y el 40% mostró una textura ligeramente afelpada (EC-F2, EC-H3, EC2-F4, EC-F4). Solo uno de los aislados (EC-H3) consiguió producir masa conidial que se manifestó mediante esporulación de color naranja. El crecimiento micelial fue de aproximadamente 10 mm por día (± 2 mm) con temperatura ambiente de $23^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ en medio de cultivo PDA (tabla 4.1).

Tabla 4.1. Características morfo cultural de los aislados de *Colletotrichum* spp en frutos de maracuyá.

Código aislado	Color de la colonia	Características la conidia	Masa conidial	Crecimiento conidial (por día)	
EC-F3Q	Grisáceo-blanco en periferia	Afelpada	No	10 mm \pm 2 mm	

EC-F3Q4	Grisáceo-blanco en periferia	Afelpada	No	10 mm ± 2 mm	
EC-F2	Grisáceo-blanco en periferia	Ligeramente afelpada	No	10 mm ± 2 mm	
EC-F4Q	Grisáceo-blanco	Afelpada	No	10 mm ± 2 mm	
EC2-F6	Grisáceo	Afelpada	No	10 mm ± 2 mm	
EC-H3	Grisáceo-blanco	Ligeramente afelpada	Si	10 mm ± 2 mm	


EC2-F7	Grisáceo	Afelpada	No	10 mm ± 2 mm	
EC-F3Q2	Grisáceo-blanco en periferia	Afelpada	No	10 mm ± 2 mm	
EC2-F4	Grisáceo	Ligeramente afelpada	No	10 mm ± 2mm	
EC-F4	Grisáceo-blanco	Ligeramente afelpada	No	10 mm ± 2mm	

- **Mango**

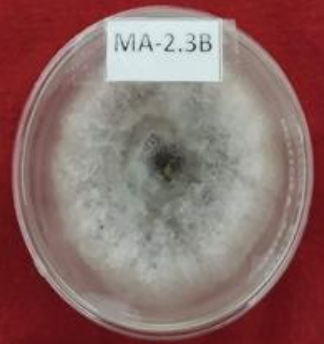
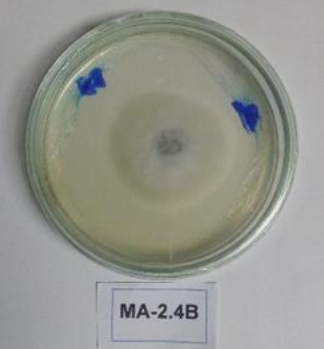

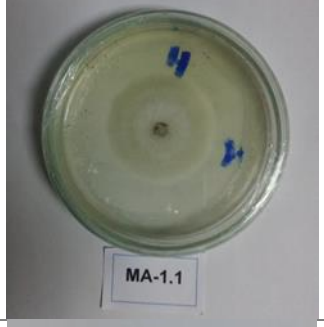
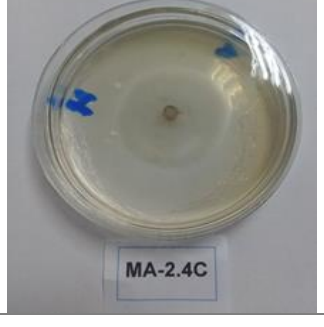
Los aislados de mango mostraron características diferentes a las observadas en los aislados de maracuyá, en el color predominó el blanco con grisáceo en el centro de la colonia, tal como lo reflejan los aislados (MA-22A, MA-11, MA-24C, MA-13B). En otros aislados prevaleció blanco grisáceo que se distribuían en toda la caja Petri (MA-2, MA-22B, MA-O4, MA-21, MA-24B, MA-22). Otra de las características que se pudo apreciar visualmente son estructuras de color negro de textura dura, estas

formaciones son características de algunas cepas de *Colletotrichum* spp cuando intentan formar acérvulos en medio de cultivo. Las características texturales de los conidios presentaron el 40% de aislados afelpados (MA-21, MA-22, MA-24C, MA-13B) y el 60% de aislados ligeramente afelpados (MA-2, MA-O4, MA-22A, MA-24B, MA-11, MA-22B). Tres de los aislados presentaron esporulación (masa conidial) naranjada (MA-2, MA-O4, MA-22B) y su crecimiento micelial a temperatura ambiente fue de 10 mm (\pm 2 mm) por día excepto los aislados MA-2 (5 mm \pm 2 mm) y MA-23 (7 mm \pm 2 mm) con temperatura ambiente de 23°C \pm 2°C en medio PDA (tabla 4.2).

Tabla 4.2. Características morfocultural de los aislados *Colletotrichum* spp en frutos de mango.

Código aislado	Color de la colonia	Características de la conidia	Masa conidial	Crecimiento conidial (por día)	
MA-2	Blanca-grisácea (pústulas negras)	Ligeramente afelpada	Si	5 mm \pm 2 mm	
MA-O4	Grisácea	Ligeramente afelpada	Si	10 mm \pm 2 mm	
MA-21	Grisácea	Afelpada	No	10 mm \pm 2 mm	

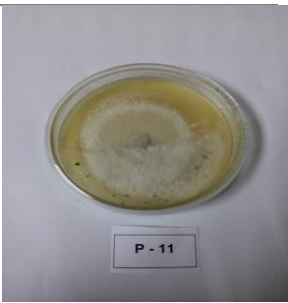
- **Papaya**

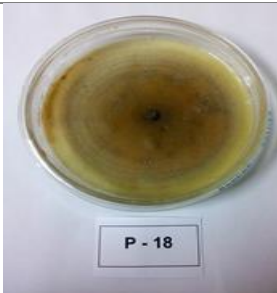
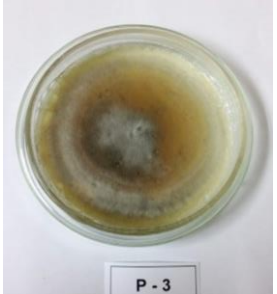

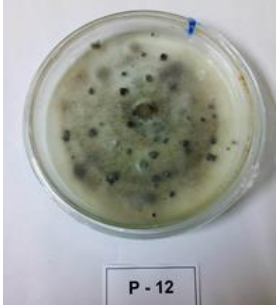
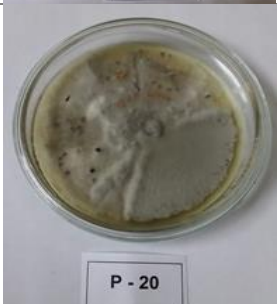
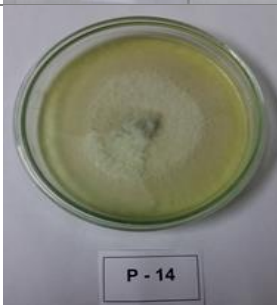
MA-23B	Blanca-grisácea en el centro	Ligeramente afelpada	No	7 mm ± 2 mm	
MA-24B	Blanca (pústulas negras)	Ligeramente afelpada	No	10 mm ± 2 mm	
MA-22	Grisácea	Afelpada	No	10 mm ± 2 mm	
MA-11	Blanca-grisácea en el centro	Ligeramente afelpada	No	10 mm ± 2 mm	
MA-24C	Blanca-grisácea en el centro	Afelpada	No	10 mm ± 2 mm	

MA-22B	Blanca- (pústulas negras)	Ligeramente afelpada	Si	10 mm ± 2 mm	
MA-13B	Blanca- grisácea en el centro- (pústulas negras)	Afelpada	No	10 mm ± 2mm	

Características similares a los aislados anteriores, los colores predominantes fueron el blanco y el gris (P-18, P-14, P-4, P-12, P-20, P-1) en algunos se presentó la mezcla de gris y blanco (P-11, P-15, P-13, P-17). Además, como en el caso de los aislados de mango se presentaron intentos de formar acérvulos, la textura del aislado no varió, fue ligeramente afelpada en los 10 aislados, 5 aislados presentaron masa conidial (P-18, P-20, P-14, P-4, P-17). Su crecimiento micelial con una temperatura ambiente de $23^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, fue de 10 mm por día en medio PDA (tabla 4.3).

Tabla 4.3. Caracterización morfocultural de los aislados de *Colletotrichum* spp en frutos de papaya.

Código aislado	Color de la colonia	Características de la conidia	Masa conidial	Crecimiento conidial (por día)	
P-11	Blanca- grisácea (pústulas negras)	Ligeramente afelpada	no	10 mm ± 2 mm	

P-18	Blanca-grisácea	Afelpada	si	10 mm ± 2 mm	
P-3	Blanca-grisácea	Afelpada	si	10 mm ± 2 mm	
P-13	Blanca grisácea - pústulas negras	Ligeramente afelpada	no	10 mm ± 2 mm	
P-12	Banca-pústulas negras	Ligeramente afelpada	no	10 mm ± 2 mm	
P-20	Grisácea-pústulas negras	Ligeramente afelpada	si	10 mm ± 2 mm	
P-14	Blanca	Ligeramente afelpada	si	10 mm ± 2 mm	

P-1	Blanca grisácea	Ligeramente afelpada	si	10 mm ± 2 mm	
P-4	Grisácea	Ligeramente afelpada	si	10 mm ± 2 mm	
P-17	Blanca- grisácea	Afelpada	si	10 mm ± 2 mm	

Como se observa las características morfoculturales que se presentaron son varias ya sea en color, textura, crecimiento o en producción de esporas a una temperatura ambiente, esto se lo puede atribuir a la gran capacidad fenotípica de los hongos, esto les ayuda adaptarse a diferentes ambientes y climas, así como lo manifiesta Tozze *et al.* (2016). Esta capacidad de la plasticidad fenotípica no es más que la manifestación de genes segregantes con la finalidad de adaptación del organismo y así asegurar su existencia (Muñoz, 2016).

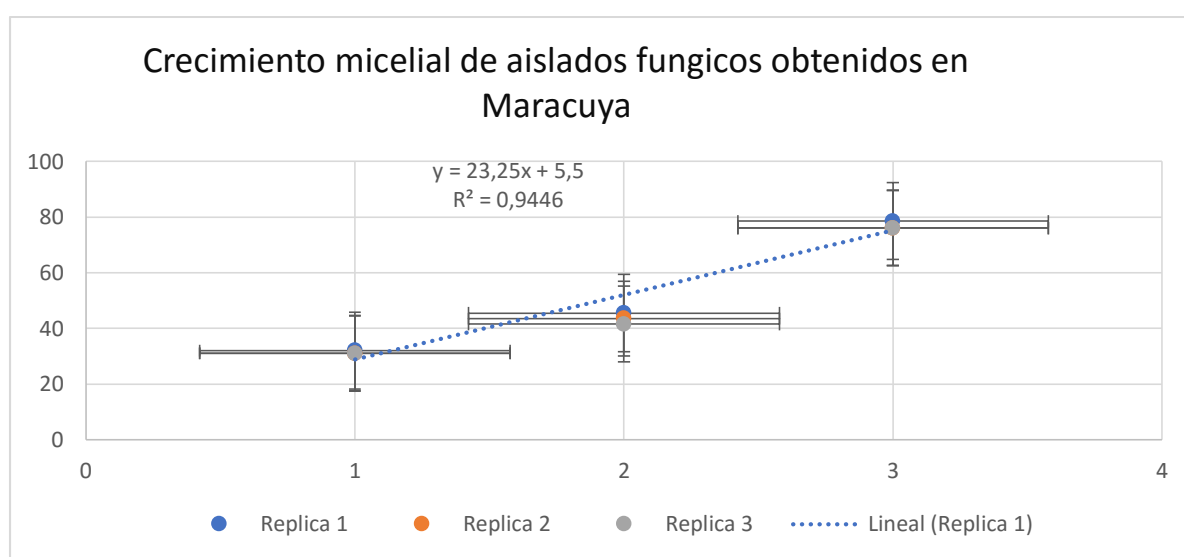
También se puede acotar que los hongos del género *Colletotrichum* spp que causan los síntomas de la antracnosis pueden ser de diferentes complejos de especies como por ejemplo *Colletotrichum acutatum* y *C. gloeosporioides* como manifiestan Moral *et al.* (2014), debido a esto las características morfoculturales pueden variar de acuerdo a la especie (Saldarriaga, Castaño & Arango, 2008).

4.3. CRECIMIENTO *IN-VITRO* DE DE *Colletotrichum* spp AISLADOS EN DIFERENTES FRUTOS:

- **Maracuyá**

Tabla 4.4. Medias de crecimiento micelial de hongos obtenidos de maracuyá.

Código Aislado	Día 2 (p-valor <0,0067)	Día 4 (p-valor <0,0029)	Día 6 (p-valor <0,0001)
EC2-F7	16,30 ^a	35,55 ^a	65,18 ^b
EC-H3	16,85 ^{a b}	34,45 ^{a b}	63,70 ^b
EC-F2	17,22 ^{a b}	36,85 ^{a b c}	64,81 ^b
EC-F4Q	17,41 ^{a b}	40,00 ^{a b c}	65,75 ^b
EC-F3Q4	17,41 ^{a b}	35,93 ^{a b c}	64,63 ^b
EC2-F6	17,41 ^{a b}	35,74 ^{a b c}	64,26 ^b
EC-F3Q	17,41 ^{a b}	35,56 ^{a b}	58,89 ^a
EC-F3Q2	19,82 ^{a b}	40,56 ^{a b c}	66,48 ^b
EC-F4	21,30 ^b	42,78 ^{b c}	77,78 ^c
EC2-F4	21,48 ^b	43,52 ^c	78,89 ^c

**Figura 4.1.** Crecimiento micelial de aislados de *Colletotrichum* spp obtenidos en Maracuyá. Representa en crecimiento lineal a los días 2, 4 ,6 con un p- valor del < 0,0067, 0,0029, 0,0001.

- **Mango**

Tabla 4.5. Medias de crecimiento micelial de hongos obtenidos de fruta de mango.

Código Aislado	Día 2 (p-valor <0,0001)	Día 4 (p-valor <0,0001)	Día 6 (p-valor <0,0001)
MA-2	11,11 ^a	17,59 ^a	24,26 ^a
MA-23B	11,67 ^a	22,41 ^a	33,52 ^a
MA-22B	19,07 ^b	47,59 ^b	77,59 ^{b c}
MA-24C	20,19 ^b	45,19 ^b	77,22 ^{b c}
MA-13B	20,56 ^b	45,37 ^b	66,30 ^b
MA-24B	20,74 ^b	46,36 ^b	77,22 ^{b c}
MA-04	20,92 ^b	48,70 ^b	80,18 ^{b c}
MA-12B	21,85 ^b	48,52 ^b	74,82 ^{b c}
MA-11	22,04 ^b	48,19 ^b	74,45 ^{b c}
MA-22 ^a	22,78 ^b	45,74 ^b	70,37 ^{b c}

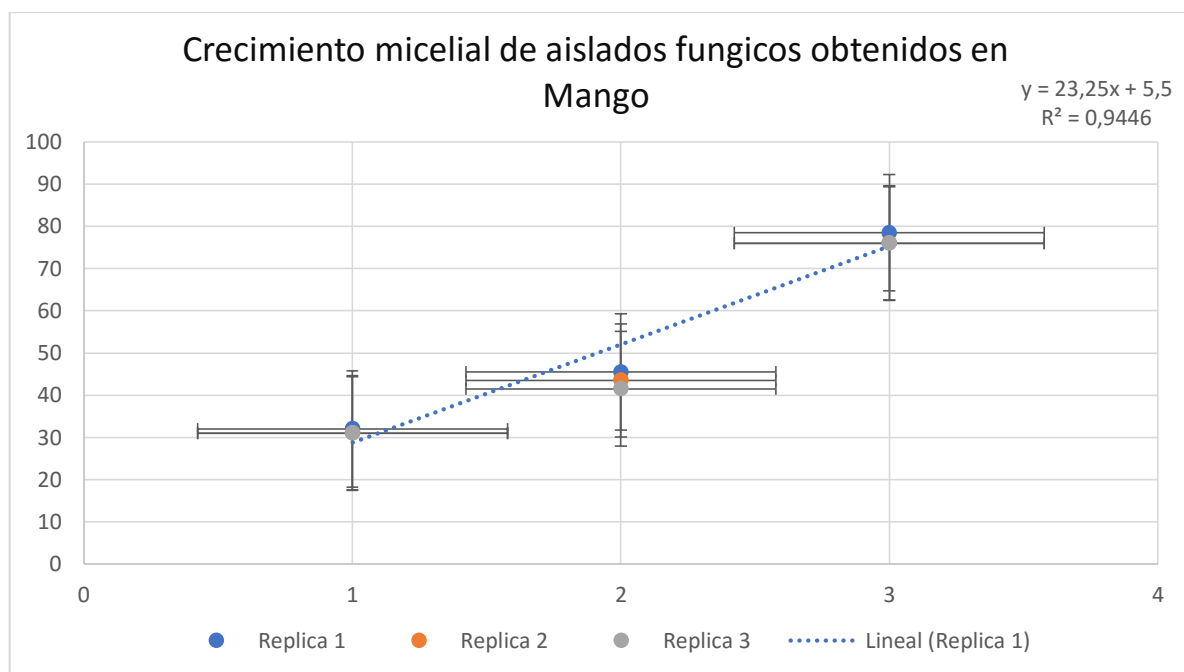


Figura 4.2. Crecimiento micelial de aislados de *Colletotrichum* spp obtenidos en Mango. Representa en crecimiento lineal a los días 2, 4 ,6 con un p- valor del < 0,0001

- **Papaya**

Tabla 4.6. Medias de crecimiento micelial de hongos obtenidos de papaya.

Código Aislado	Día 2 (p-valor <0,0221)	Día 4 (p-valor <0,0144)	Día 6 (p-valor <0,0034)
P-14	16,85 a	35,55 a b	68,15 a b
P-20	17,59 a b	34,45 a	66,11 a b
P-15	17,96 a b	36,85 a b	64,63 a b
P-19	18,15 a b	38,33 a b	59,63 a
P-12	18,33 a b	35,74 a b	65,37 a b
P-13	18,52 a b	40,00 a b	66,48 a b
P-18	18,70 a b	40,00 a b	64,63 a b
P-21	20,00 a b	40,56 a b	56,67 a
P-17	21,30 a b	42,78 a b	79,82 b
P-4	21,48 b	43,52 b	78,33 b

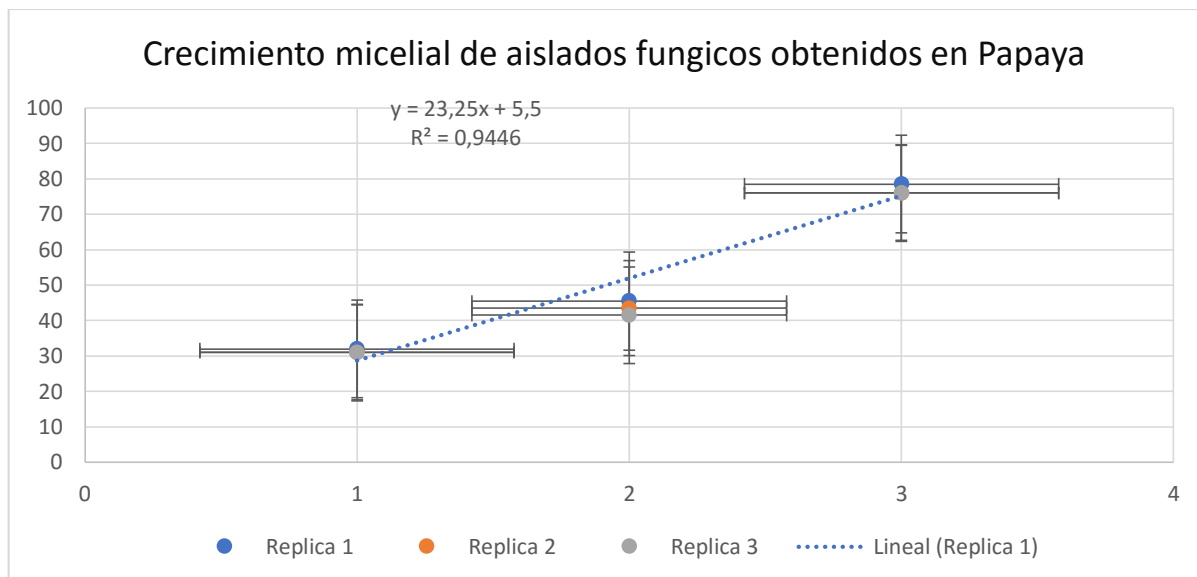


Figura 4.3. Crecimiento micelial de aislados de *Colletotrichum* spp obtenidos en Papaya. Representa en crecimiento lineal a los días 2, 4 ,6 con un p- valor del < 0,0221, 0,0144, 0,0034

El crecimiento de los aislado a temperatura ambiente de $23^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ en medio PDA en cajas de Petri de 90 mm, reflejo tres rangos estadísticos que indican diferencias significativas ($P < 0.01$, 0,0221, 0,0144, 0,0034, 0,0067, 0,0029), los cuales diferenciaron claramente a los aislados de alto desarrollo micelial frente a los de medio y bajo, según las medias estadísticas. En los aislados de mango las medias altas fueron 77,59 mm y 77,22 mm (MA-22B, MA-24C), las de medio desarrollo se generalizo en 66,30 mm (MA-13B) y el menor promedio fue entre 24,36 mm y 33,52 mm (MA-2, MA-23B) (tabla 4.4). Los aislados obtenidos de maracuyá mostraron dos medias estadísticas altas de 77,78 mm y 78,89 mm (EC-F4, EC2-F4), el rango intermedio fue de 65 mm aproximadamente (EC-F4Q), y el más bajo se manifestó en 58,89 mm (EC-F3Q) (tabla 4.5). Los aislados de papaya reflejaron medidas altas de 79,82 mm y 78,33 mm (P-17, P-4), medida media de 65 mm (P-12) y baja de 59,63 mm (P-21) (tabla 4.6).

El crecimiento de los aislado a temperatura ambiente de $23^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ en medio PDA en cajas de Petri de 90 mm, reflejo tres rangos estadísticos que indican diferencias significativas ($P < 0.01$, 0,0221, 0,0144, 0,0034, 0,0067, 0,0029), los cuales contrastan claramente entre los de mayor con los de medio y bajo crecimiento según las medias estadísticas. En los de mango las medias altas fueron 77,59 mm y 77,22

mm (MA-22B, MA-24C), el medio se generalizo en 66,30 mm (MA-13B) y el menor promedio fue entre 24,36 mm y 33,52 mm (MA-2, MA-23B) (tabla 4.4). Los aislados obtenidos de maracuyá mostraron dos medias estadísticas altas de 77,78 mm y 78,89 mm (EC-F4, EC2-F4), el rango intermedio fue de 65 mm aproximadamente (EC-F4Q), y el más bajo se manifestó en 58,89 mm (EC-F3Q) (tabla 4.5). Los de papaya reflejaron medidas altas de 79,82 mm y 78,33 mm (P-17, P-4), media de 65 mm (P-12) y baja de 59,63 mm (P-21) (tabla 4.6).

El análisis de los datos marca un crecimiento micelial en todas las unidades experimentales en unas más que otras, esto se debe a que todos los hongos no crecen al mismo ritmo y tampoco pueden alcanzar el mismo diámetro (Mendivil, 2013), que *Colletotrichum* spp crezca de una manera normal a temperatura ambiente puede ser la razón para que la enfermedad antracnosis sea endémica, al respecto García, Guzmán, Rivero & Santos, (2009), manifiestan que la temperatura óptima para su crecimiento del hongo es de 24°C pero que no garantiza que se desarrolle por completo en la caja petri en todas las unidades experimentales, dependerá mucho de la plasticidad del organismo.

4.4. PATOGENICIDAD

- **Maracuyá**

La patogenicidad de los aislados de *Colletotrichum* spp encontrados en los órganos de la planta de maracuyá, cabe recalcar que no solo se obtuvieron aislados de fruto, también se obtuvieron aislados de hojas, estos dieron como resultado un 100% de patogenicidad, debido a que se detectaron lesiones circulares color marrón, hundimiento de la lesión incluso en algunos casos presencia de esporulación que son síntomas característicos de la patología de la antracnosis como se aprecia en las imágenes (figura 4.4).



Figura 4.4. Síntomas en frutos de maracuyá inoculados con aislados obtenidos de lesiones de antracnosis en frutos de la misma especie.

- **Mango**

Los aislados de mango obtenidos dieron positivo a patogenicidad, se determinó debido a la sintomatología, lesiones marrones oscuras y blandas propias de la fase necrotrofica, o saprofítica de la antracnosis (figura 4.5)



Figura 4.5. Síntomas en frutos de mango inoculados con aislados obtenidos de lesiones de antracnosis en frutos de la misma especie.

- **Papaya**

Los aislados de papaya fueron positivos a la correlación que existe en los aislados extraídos y los daños patogénicos que produce (figura 4.6).



Figura 4.6. Síntomas en frutos de papaya inoculados con aislados obtenidos de lesiones de antracnosis en frutos de la misma especie.

La prueba de patogenicidad evaluada permite confirmar que *Colletotrichum* spp, fue el causante de su sintomatología, expresando signos que previamente produce antracnosis, cinco días posteriores a la infección se observó el signo más característico del patógeno, la formación de acérvulos (Perfect *et al.*, 1999; Cano, Cano, López, Carballo & Guharay 2004 y Pinzón, Bustamante & Buitrago 2013).

4.5. SENSIBILIDAD *IN – VITRO*

La comparación de medias y el análisis de varianza (tukey 0,05) demostró una diferencia significativa, con el 95% de confianza ($p < 0,0001$), donde se comprobó que todos los tratamientos presentaron inhibición de *Colletotrichum* spp en relación al Testigo, clorotalonil y cobre pentahidratado, en relación a los otros, que alcanzaron menor inhibición, pero a su vez inhibiendo significativamente más que el testigo, esto indistintamente del aislado y especie frutal donde se colectó el patógeno (tabla 4.7, 4.8, 4.9, 4.10, 4.11 y 4.12). Los porcentajes de inhibición difeconazol, propiconazol, carbendazin, benomil, azoxystrobin, tebuconazol, fueron del 100% a diferencia de clorotalonil que fue de un 58% al 78% y cobre pentahidratado que fue de un 35% al 68%. En cuanto a la dosis no fue influyente la concentración del producto, pero si se

marca una diferencia entre el testigo que tubo inhibición 0 a los 7 días que lleno la caja con un nivel de confianza de 95%.

- **Maracuyá**

Tabla 4.7

Medias de dosis de sensibilidad de maracuyá.

DOSIS	MEDIAS	P-VALOR
BAJA	91,99 ^a	< 0,0001
MEDIA	90,97 ^a	
ALTAS	84,37 ^a	
TESTIGOS	15,56 ^b	

Tabla 4.8

Medias de inhibición de crecimiento micelial en fungicidas

FUNGICIDAS	MEDIAS	P-VALOR
DIFECONAZOL	94,44 ^a	0,0001
PROPICONAZOL	94,44 ^a	
CARBENDAZIN	94,44 ^a	
BENOMIL	94,44 ^a	
AZOXYSTROBIN	94,44 ^a	
TEBUCONAZOL	94,44 ^a	
CLOROTALONIL	77,27 ^b	
SULFATO COBRE PENTAHIDRATADO	68,98 ^b	
TESTIGO	15,56 ^c	

- **Mango**

Tabla 4.9

Medias de dosis de sensibilidad de mango.

DOSIS	MEDIAS	P-VALOR
BAJA	83,38 ^a	< 0,0001
MEDIA	82,60 ^a	
ALTAS	82,10 ^a	
TESTIGOS	14,26 ^b	

Tabla 4.10

Medias de inhibición de crecimiento micelial en fungicidas

FUNGICIDAS	MEDIAS	P-VALOR
DIFECONAZOL	94,44 ^a	0,0001
PROPICONAZOL	94,44 ^a	
CARBENDAZIN	94,44 ^a	
BENOMIL	94,44 ^a	
AZOXYSTROBIN	94,44 ^a	
TEBUCONAZOL	94,44 ^a	
CLORATHALONIL	58,98 ^b	
SULFATO COBRE PENTAHIDRATO	35,93 ^c	
TESTIGO	14,26 ^d	

- **Papaya**

Tabla 4.11

Medias de dosis de sensibilidad de papaya.

DOSIS	MEDIAS	P-VALOR
BAJA	90,97 ^a	< 0,0001
MEDIA	89,75 ^a	
ALTAS	83,38 ^b	
TESTIGOS	14,63 ^c	

Tabla 4.12

Medias de inhibición de crecimiento micelial en fungicidas

FUNGICIDAS	MEDIAS	P-VALOR
DIFECONAZOL	94,44 ^a	0,0001
PROPICONAZOL	94,44 ^a	
CARBENDAZIN	94,44 ^a	
BENOMIL	94,44 ^a	
AZOXYSTROBIN	94,44 ^a	
TEBUCONAZOL	94,44 ^a	
CLORATHALONIL	75,55 ^b	
SULFATO COBRE PENTAHIDRATO	61,30 ^c	
TESTIGO	14,63 ^d	

El carbendazin mostró resultados favorables posiblemente a su mecanismo de acción que está relacionado a la inhibición de los polímeros de beta tubulina fundamentales para los procesos de división celular como lo mencionan Kongtragoul, P, Nalumpang, S, Miyamoto, Y, Izumi, Y. & Akimitsu, K. (2011), esto difiere con lo manifestado por Hernández, V, Hoyos, L, & Cardona, A. (2013) ya que ellos obtuvieron una inhibición

entre 50 a 70%. El benomil por su parte con su capacidad de evitar la división celular (mitosis) fue otro que no permitió el crecimiento micelial en su totalidad este pertenece al mismo grupo de carbendazin, pero sin embargo se han reportado aislados tanto de *Colletotrichum* spp como otros fitopatógenos que son altamente resistentes a este fungicida, tal como lo expresan Frac, (2011); Gaviria, Patiño & Saldarriaga (2013); Hincapié, Saldarriaga & Díaz (2017) y Hou, Zhao & Liu, (2016) un ejemplo de esto es la resistencia que existe en el cultivo de arándano (Gepp, *et al.*, 2012).

Así mismo se usaron triazoles para la inhibición de ergosterol (difeconazol, propiconazol) también dio resultados positivos en la investigación concordando con lo expresado por Hernández *et al.*, (2013) que alcanzó 100% de inhibición de crecimiento micelial.

Otro resultado previsto lo mostró el azoxytrobin que pertenece al grupo de las estribirulina gracias a su capacidad de privar la respiración mitocondrial y como resultado de esto interferir en la formación de ATP (adenosintrifosfato) que es la fuente de energía para el trabajo celular, esto difiere de lo expresado por Hernández *et al.*, (2013) ya que el obtuvo porcentajes inferiores al 100% esto se puede dar a un tipo de resistencia que han adquirió los aislado.

Los tratamientos que tuvieron menor inhibición (clorotalonil y cobre pentahidratado) son más de protección o de contacto y tienen menor eficacia que los sistémicos cuando el hongo ya inoculo (Zea & Edwin, 2014).

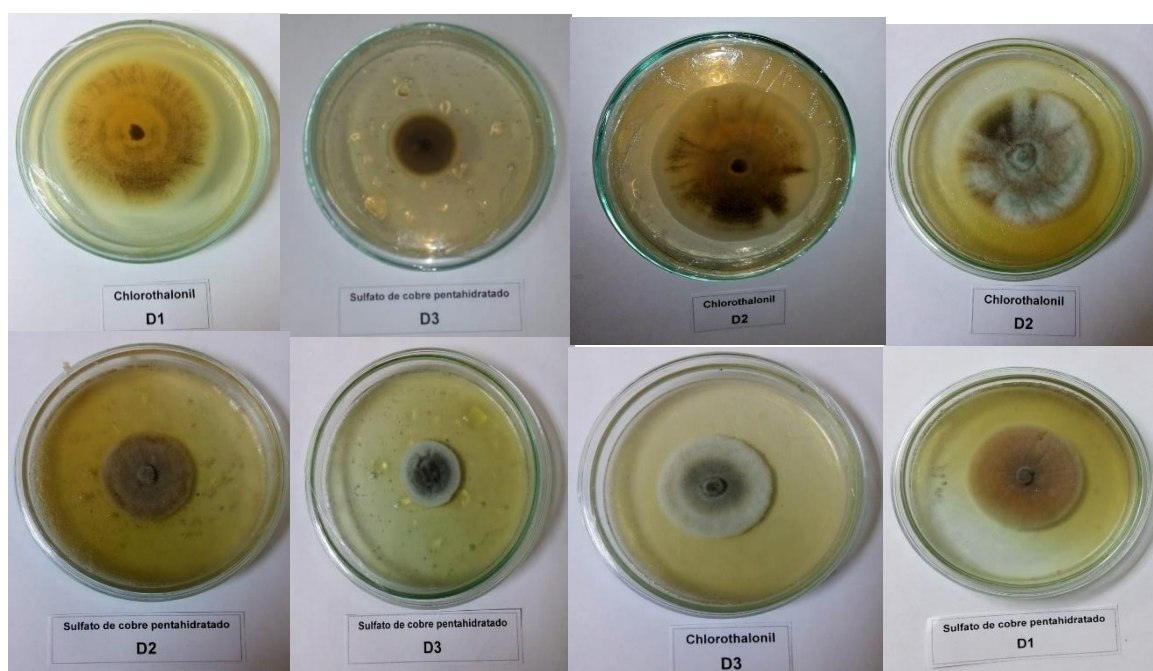


Figura 4.7. Tratamientos que tuvieron menor inhibición.

4.6. RANGO DE HOSPEDERO

Esta prueba como se mencionó antes, se hizo para analizar si el patógeno obtenido de distintas especies frutales era capaz de infectar a frutos de diferentes especies, dando como resultado en el caso de los aislados de papaya una patogenicidad moderada en los frutos de mango, no contrariamente con los de mango en frutos de papaya.

- **Aislados de papaya en mango**



Figura 4.8. Fruto de mango es hospedante del patógeno que causa antracnosis en frutos de papaya.

- **Aislados de mango en papaya**



Figura 4.9. Fruto de papaya no es hospedante del patógeno que causa antracnosis en frutos de mango.

Los aislados de maracuyá no causaron patogenicidad en frutos de papaya y mango como muestran las imágenes de la (figura 4.10 y figura 4.11).

- **Aislados de maracuyá en papaya.**



Figura 4.10. Fruto de papaya no es hospedante del mismo patógeno que causa antracnosis en frutos de mango.

- **Aislados de maracuyá en mango.**



Figura 4.11. Fruto de mango no es hospedante del patógeno que causa antracnosis en frutos de maracuyá.

Los aislados de papaya y mango tampoco fueron capaces de infectar los frutos de maracuyá (figura 4.12 y figura 4.13).

- **Aislados de papaya en maracuyá.**

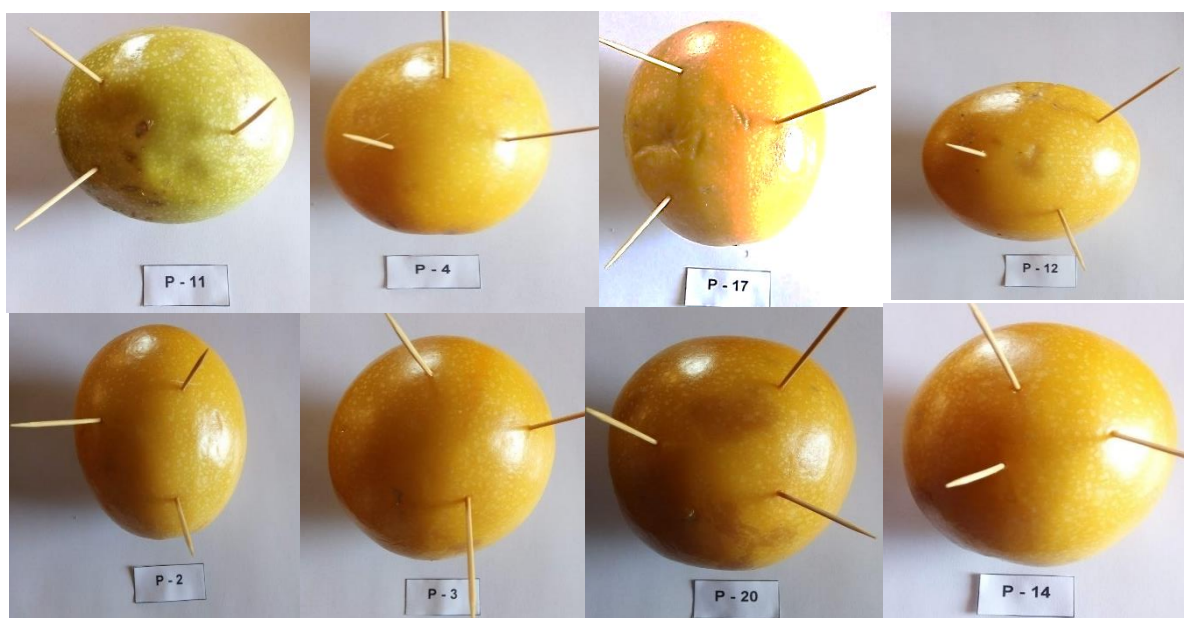


Figura 4.12. Fruto de mango no es hospedante del patógeno que causa antracnosis en frutos de maracuyá.

- **Aislados de mango en maracuyá**



Figura 4.13. Fruto de maracuyá no es hospedante del patógeno que causa antracnosis en frutos de mango.

Es muy probable que el rango de hospedero no se de en ciertos patógenos porque aparte de la inoculación se necesitan otros factores que permitan macerar la cutícula para alimentación temprana del hongo y pueda crear el haustorio, (Molina, 2009). Agrios (2006), manifiesta que, aunque el microorganismo haya ingresado también el fruto puede crear métodos de defensa que no permitan que sea patogénico, más aún en una patogenicidad cruzada ya que para el hongo no es habitual, finalmente se puede acotar que es posible que algunos patógenos sean específicos de una especie particular o de cierto género de plantas, mientras que otros tienen un rango más amplio que incluye muchos grupos taxonómicos de plantas superiores.

CAPITULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. CONCLUSIONES

- La caracterización encontrada en aislados fúngicos de maracuyá fue en un 40% grisáceo-blanco en periferia, 30% grisáceo-lanco y 30% grisáceo, en su mayoría con características conidiales afelpadas no presentando masa conidial en un 80% y un crecimiento diario de 10 mm (± 2 mm).
- Los aislados de mango mostraron características diferentes a las observadas en los de maracuyá, el color que predominó fue el blanco con grisáceo en el centro de la colonia, en otros predominó un color blanco grisáceo acompañado de sus estructuras de color negro de textura dura presentando una característica conidial en un 40% de aislados afelpados y el 60% ligeramente afelpados. (Tres de los aislados presentaron esporulación (masa conidial) color naranja y su crecimiento a temperatura ambiente fue de 10 mm (± 2 mm) por día.
- Las características de los aislados fúngicos obtenidos de papaya fueron similares a los aislados anteriores, los colores predominantes fueron el blanco y el gris, en algunos se presentó la mezcla de gris y blanco, además presentaron intentos de formar acervúlos, la textura del aislado no varió fue ligeramente afelpada en el 100% de los aislados, el 50% presentaron masa conidial con un crecimiento a temperatura ambiente de 10 mm por día (± 2 mm).
- Se estableció la variabilidad patogénica de los aislados conseguidos dando como resultado todos patogénicos.
- Los aislados de *Colletrotichum* spp patógenos en las especies frutales (maracuyá, mango y papaya) mostraron mayor sensibilidad *in-vitro* frente a los fungicidas (benomil, difeconazol, azoxystrobin, propiconazol, carendazin y tebuconazol) y siendo clorotalonil y sulfato de cobre pentahidratado los de más bajo desempeño.
- Se realizó la patogenicidad cruzada entre los aislados y distintos frutos siendo levemente patogénico los aislados de papaya en mango.

5.2. RECOMENDACIONES

- Incitar a pruebas de sensibilidad *in-vitro* para tener un conocimiento más amplio de que fungicida está presentando resistencia en otros cultivos de gran importancia económica.
- Para el control de *Colletotrichum* spp en las especies frutales (maracuyá, mango y papaya) se debería aplicar los fungicidas (benomil, difeconazol, azoxystrobin, propiconazol, carendazin y tebuconazol) ya que estos fueron los que inhibieron el crecimiento del patógeno.
- Realizar caracterizaciones culturales de las cepas de *Colletotrichum* spp bajo diferentes niveles de temperatura.

BIBLIOGRAFÍA

- Acosta, R., Nieto, A. & Domínguez, D. (2003). Calidad y tolerancia en frutos de papaya (*Carica papaya* L.) a la inoculación del hongo *Colletotrichum gloeosporioides* Penz., en poscosecha. *Chapingo Serie Horticultura*, 7, 119-124.
- Agostini, J., Timmer, B., & Mitchell, C. (1992). Morphological, and pathological characteristics on *Colletotrichum gloeosporioides* from citrus. *Phytopathology*.82: 1377-1382.
- Álvarez, M. (1991). Resistencia cruzada negativa entre los fungicidas benomilo y dietofencarb en aislamientos de *Botrytis cinerea* DE VIDES1 Negatively correlated cross-resistance to diethofencarb fungicide in benomyl-resistant *Botrytis cinerea* of grapes. *Agricultura Técnica (Chile)*, 51(2), 171-176.
- Agrios. 2006. Fitopatología. Editorial Limusa S.A de C.V. México D.F.
- Arango, J. (1993). Evaluación de diferentes distancias de siembra y su incidencia en la Antracnosis del Tomate de árbol (*Cyphomandra betacea* (CAV.) Sendt.). Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias Agropecuarias. Colombia. Seccional Medellín .
- Bailey, J., O'Connell, R., Pring, R., & Nash, C. (1992). Infection Strategies of *Colletotrichum* Species. En: *Colletotrichum: Biology, Pathology and Control* (Bailey JA y Jeger MJ,Eds.). *CAB International Wallingford*, 88-120.
- Bayer. (2017). Folicur. (En línea). Consultado el 11 de diciembre del 2018. Formato PDF. Recuperado de: <https://www.cropscience.bayer.ec/>
- Benavides, J. (2016). Estudio de factibilidad de creación de una empresa exportadora de papayas hawaiana. Recuperado de http://www.dspace.espol.edu.ec/bitstream/123456789/10336/8/cadena_logistica_de_exportacion_papaya-solo.pdf
- Benítez, C., F, A., Huerta, G., Holguín, M., & Toledo Arreola, J. (2003). Efecto de *Colletotrichum gloeosporioides*(Penz.) Penz. y Sacc. En la caída de frutos de mango cv. *Mexicana de Fitopatología*, 21, 223-227.
- Bernacci, L., Soares, M., Junqueira, N., Passos., & Meletti, L. (2008). *Passiflora edulis* Sims: the correct taxonomic way to cite the yellow passion fruit (and of others colors). *Revista Brasileira de Fruticultura*, 30(2), 566-576.
- Bruwer, T.; Legadec, M.; Kohne, J. (2006). A Decade of Mango Cultivar Evaluation by Westfalia Technological Services. *8th International Mango Symposium*, 113-118.
- Brenes, O. (1983). Evaluación de la resistencia a *Monilia roleri* y su relación con algunas características morfológicas del fruto de cultivares de cacao (*Theobroma cacao* L.) (No. Thesis B837ev). Universidad de Costa Rica, Turrialba (Costa Rica) Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza, Turrialba (Costa Rica).
- Bruwer, T., Legadec, M., & Kohne, J. (2006). A Decade of mango cultivar evaluation by Westfalia Technological Services. *8th International Mango*

- Butt, T., & Copping, L. (2000). Fungal biological control agents. *Pesticide Outlook*, 11, 186-191.
- Cai, L., Hyde, K. D., Taylor, P. W., Weir, B. S., Waller, J., Abang, M. M., & Johnston, P. R. (2009). A polyphasic approach for studying *Colletotrichum*. *Fungal Diversity*, 39, 183-204.
- Caires, N., Pinho, D., Souza JSC, S. M., Lisboa, D., Pereira, O., & Furtada, G. (2014). First report of anthracnose on pepper fruit caused by *colletotrichum scovillei* in Brazil. *Plant Dis*, 98-1437.
- Cajas, C. L., (2016). Control químico in vitro de *Phytophthora* sp agente causal de la mancha negra en el cultivo de cacao (Bachelor's thesis, Machala: Universidad Técnica de Machala).
- Campo, A., Escobar, R., López, M., F, S., Cepeda, E., & Lorriana. (2015). Patogenicidad de cepas de *Colletotrichum gloeosporioides* aisladas en distintos órganos de la planta de maracuyá amarilla (*Pasiflora edulis* F. *flavicara* O. Deg). *Fitopatología Colombiana*, 39, 41-44.
- Cano, E., López, J. A., Cano, E., Carballo, C. V., & Guharay, F. (2004). *Control biológico de plagas agrícolas* (No. 53). Bib. Orton IICA/CATIE.
- Cañizares, E., & Jaramillo, E. (2015). El cultivo de maracuyá en el Ecuador. ResearchGate, 25.
- Carboni, R. (2018). Complexos de espécies de *Colletotrichum* associados aos citros e a outras frutíferas no Brasil. Tesis. Brasil.
- Carreño, L., & Nocua, O. (2011). Efecto combinado de dos recubrimientos comestibles con atmósfera modificada en mango (*Manguifera indica*) variedad tommy atkins mínimamente procesado refrigerado. Carboni, R. (2018). Complexos de espécies de *Colletotrichum* associados aos citros e a outras frutíferas no Brasil. Tesis. Brasil.
- Carrillo, F. (2005). Control biológico de antracnosis [*Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) y Sacc.] y su efecto en la calidad poscosecha del mango (*Mangifera indica* L.). *Mexicana de Fitopatología* (23), 24-32.
- Castro, J. (2009). El cultivo del maracuyá *Passiflora edulis* form. *Flavicarpa*. *Gerencia Regional Agraria La Libertad*, 30.
- Cedeño, L., Mohali, S., & Palacios, E. (1994). Antracnosis causada por dos cepas de *Glomerella cingulata* en frutos de parchita Venezuela. *Fitopatología Venezolana* 6(2): 30-33. www.redpav-fpolarinfo.ve/fitopatology/v062a
- Centis, S., Guillas, N., & Sejalón, M. (1997). Esquerré-Tugayé. Endopolygalacturonase Genes from *Colletotrichum*: Cloning of clpg2 and Comparison of its Expression to that of clpg1 During Saprophytic and Parasitic Growth of the Fungus. *Molecular Plant Microbe Interactions*, 10, 769-775.
- Checa, Y. 2018. Mango Ecuador Foundation. Recuperado de: <https://www.mangoecuador.org/plantasexportadores.php?ID=AGRIPRODUCT>

- Cia, P., Aparecida, E., Toledo, V., Delgado, A., Scolfaro, P., Sanches, J., & Monteiro, T. (2009). Radiação ultravioleta no controle pós-colheita de *Colletotrichum gloeosporioides* em uva 'Niagara rosada'. *Bragantia, Campinas*. 68:1009-1015.
- Cruciol, D., & Costa, N. (2017). Influência de metodologias de inoculação de *Macrophomina phaseolina* no desempenho de cultivares de soja. *Summa Phytopathologica*, 43(4), 337-343.
- Damm, U., Cannon, P., Woudenberg, J., Johnston, P., Weir, B., Tan, Y, Crous, P. (2012). El complejo de especies *Colletotrichum boninense*. *Studies in Mycology*, 73, 1-36
- Días, M., Pozza, E., Abreu, M., y Miranda, E. 2005. Effect of temperature on micelial growth, production and conidial germination of *Colletotrichum* spp. From *Coffea arabica* L. *Ciênc. Agrotec*, 29(3), 545-552.
- Ferreira, M., Andrade, E., Uesugi, U., & Ueno, B. (2007). Caracterização morfo-cultural e molecular de isolados de *Colletotrichum gloeosporioides* patogênicos ao mamoeiro. *Fitopatologia Brasileira*, 32, 021-031.
- Flores, O., Marín, H., & Zapata, J. (2009). Estudio de las prácticas de cosecha y poscosecha de la papaya (*Carica papaya* cv. Maradol). Huila, Cl. *Investigación Agraria y Ambiental.*, 01, 29-36.
- Frac, F. (2011). FRAC code list: fungicides sorted by mode of action (including FRAC Code numbering).
- Freeman, S., Katan, t., & Shabi, E. (1996). Characterization of *Colletotrichum gloeosporioides* isolates from avocado and almond fruits with molecular and pathogenicity test. *Applied and Enviromental Microbiology*, Washington, 62(3), 14-20
- Galán, S. (2009). *El cultivo del mango*. Mundi-Prensa Libros.
- García, M. (2010). Guía técnica del cultivo de maracuyá. Recuperado el 28 de octubre de 2018, de <http://centa.gob.sv/>
- García, J., Guzmán, M., Rivero, H., & Santos, M. (2009). Temperatura base in vitro de *Colletotrichum gloeosporioides* Penz aislado de frutos de aguacate (*Persea americana* Mill.) cv. Hass en Michoacán, México. *Revista Científica UDO Agrícola*, 9(2), 414-420.
- Garrido, M., & Trujillo, G. (1988). Rango de hospederos del virus del mosaico enanizante del maíz raza venezolana (MDMV-V). *Fitopatología Venezolana*, 1, 82-84.
- Gaviria, V., Patiño, L., & Saldarriaga, A. (2013). In vitro evaluation of commercial fungicides for control of *Colletotrichum* spp., in blackberry. *Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, 14(1), 67-75.
- Georgi, K. (1993). Metodología para la evaluación de la incidencia y severidad de la enfermedad "tristeza del palto" aislamiento, identificación y patogenicidad de cepas de *Phytophthora asociadas*. Tesis, Universidad Católica De Valparaiso, Quillota-Chile. Obtenido de http://www.avocadosource.com/papers/chile_papers_a-z/g-h-i/georgikaren1993.pdf

- Gepp, V., Vero, S., Cassanello, M. E., Romero, G., Silvera, E., González, P., & Bentancur, O. (2012). Resistencia a fungicidas en *Botrytis cinerea* en el Uruguay. *Agrociencia Uruguay*, 16(1), 97-107.
- Gutiérrez, J. (2001). Características de crecimiento, germinación, esporulación y patogenicidad de aislamientos de *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. Obtenidos de frutos de mango (*Mangifera indica* L.). *Mexicana de Fitopatología*, 9, 1.
- Gutiérrez A, J., Nieto A, D., Téliz O, D., Zavaleta M, E., & Delgadillo S, F. (2004). Manejo integrado de la antracnosis [*Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. y Sacc.] del mango (*Mangifera indica* L.) durante la postcosecha. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 22(3).
- Gutiérrez, A. (2007). Control de la antracnosis en frutos de papaya (*Carica papaya* L) durante la poscosecha. *Reporte anual de Investigación Tecnológica INFAG.*, 1.
- Hartung, J., Burton, C., & Ramsdell, D. (1981). Epidemiological studies of blueberry anthracnose disease caused by *Colletotrichum gloeosporioides*. *Phytopathology*, 449-453.
- Hernández, V., Hoyos, L., & Cardona, A. (2013). Evaluación in vitro de fungicidas comerciales para el control de *Colletotrichum* spp., en mora de castilla. *Revista Corpoica: Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, 14(1), 67-75.
- Hincapié Echeverri, O., Saldarriaga, A., & Díaz, C. (2017). Biological, botanical and chemical alternatives for the control of blackberry (*Rubus glaucus* Benth.) diseases. *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín*, 70(2), 8169-8176.
- Hou, F., Zhao, L., & Liu, F. (2016). Residuos y disipación de clorotalonil y azoxistrobina en repollo en condiciones de campo. *Revista internacional de química analítica ambiental*, 96 (12), 1105-1116.
- INTA (Instituto Nacional de Innovación y Transferencia en Tecnología Agropecuaria) (2017). Guía para la toma de muestras vegetales en el diagnóstico de enfermedades fungo-bacterias. Recuperado el 11 de diciembre de 2018, de <http://www.mag.go.cr/bibliotecavirtual/AV-1958.pdf>
- INSUAGRO (Insumos de agroquímicos SA). (2017). Carbendazin 50F. (En línea). Consultado el 11 de diciembre del 2018. Formato PDF. Disponible en: <http://www.insuagro.com.ar/>
- Janisiewicz, W., & Korsten, L. (2002). Biological control of postharvest disease of fruits. *Ann. Review Phytopathol.* 40:411-441.ciencias Básicas.
- Karabulut, O., & Baykal, N. (2004). Integrated control of postharvest disease of peaches with a yeast, hot water and modified atmosphere packaging. *Crop Protection* 23:431-435.
- Kader, A. (2011). Tecnología Postcosecha de Cultivos Hortofrutícolas. Universidad de Californi, EE.UU.

- Kongtragoul, P., Nalumpang, S., Miyamoto, Y., Izumi, Y. & Akimitsu, K. (2011). Mutación en el codón 198 del gen Tub2 para la resistencia a carbendazim en *Colletotrichum gloeosporioides* que causa la antracnosis del mango en Tailandia. *Journal of Plant Protection Research*, 51 (4), 377-384.
- Kurozawa, C., & Pavan, M. (2005). Manual de Fitopatología. *Doenças das plantas cultivadas Agronômica Ceres*, 618-627.
- Larran, S., Vera, B., & Dal Bello. (2011). First report of *Colletotrichum gloeosporioides* causing anthracnose on *Blepharocalyx salicifolius* in Argentina. *Australasian Plant Dis. Notes* 6: 18-19.
- Landero, V., Lara, F., Hoyos, P., Aguilar, L., Rodríguez, J. (2016). Potencial antifúngico de extractos de cuatro especies vegetales sobre el crecimiento de *Colletotrichum gloeosporioides* en papaya (*Carica papaya*) en postcosecha. *Rev. Venezolana de Ciencia y Tecnología de Alimentos*.
- Mafacioli, R., & Tessmann, D. (2006). Characterization morpho-physiological and pathogenicity of *Colletotrichum gloeosporioides* from peach palm. *Summa Phytopathologica*, 32(2), 113-117.
- Mazzoni, E., & Peixoto, S. H. (2016). Manual básico de técnicas fitopatológicas. Recuperado el 11 de diciembre de 2018, de <http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/1054670>
- Mendiratta, D., Thamke, D., Shukla, A., & Narang, P. (2005). Keratitis due to *Colletotrichum dematium*: a case report. *Indian Journal of Medical Microbiology*, 23(1), 56-58.
- Mendivil, J. (2013). Hongos en Aragón. *Consultado el 2013. Vol. 18*.
- Molina, J. (2009). *Aislamiento y caracterización de hongos patógenos presentes en lulo, tomate de árbol y mora de castilla potencialmente patógenos para los cultivos de gulupa (Pasiflora edulis var. edulis sims.)* (Bachelor's thesis, Facultad de Ciencias).
- Mondino, P., Descargado, VM., Alaniz, S., Hernández, L., & Damasco, D. (2012). Primer informe de *Colletotrichum acutatum* y *C. fragariae* causando la pudrición amarga de Apple en Uruguay.
- Moral, J., Xaviér, C., Roca, L. F., Romero, J., Moreda, W., & Trapero, A. (2014). La antracnosis del olivo y su efecto en la calidad del aceite. *Grasas y aceites*, 65(2).
- Muñoz, S. O. (2016). *Importancia de la plasticidad del anillo de septinas en la biología de c. Albicans* (Doctoral dissertation, Universidad de Salamanca).
- Ochoa, D. (2004). Determinación de los niveles de sensibilidad en aislamientos colombianos de *Phytophthora infestans* hacia tres fungicidas comunmente utilizados en su control. Trabajo de grado para optar por el título de

Microbiólogo Industrial. Pontificia Universidad Javeriana. Facultad de ciencias Básicas.

- Olivera, R., & Moral, T. (2005). Caracterización morfológica y cultural de aislados de *Colletotrichum* spp. causantes de la Antracnosis del olivo. Recuperado el 25 de noviembre de 2018, de https://www.researchgate.net/profile/Antonio_Trapero-Casas/publication/28160676_Caracterizacion_morfologica_y_cultural_de_aislados_de_Colletotrichum_spp_causantes_de_la_Antracnosis_del_olivo/links/02e7e5272afdf11337000000/Caracterizacion-morfologica-y-cul
- Oliveira, A., Barbosa, C., & Santos, F. (2000). Mamão Produção: Aspectos Técnicos. Embrapa Mandioca Fruticultura. Cruz das Almas, BA. Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia.
- Orozco, M., G, M., Guzman, S., Farias, J., & Timmer, L. (2004). Crecimiento y cambios morfológicos de *Colletotrichum acutatum* simmonds, agente causal de la antracnosis del limón mexicano (*Citrus aurantifolia* Christm. Swingle) incubado en diferentes medios de cultivo sólidos y líquidos. *Mexicana de Fitopatología*, 22, 423-428.
- Páez, A. (1997). Respuestas de cultivares de mango a la Antracnosis, en la costa Atlántica Colombiana. *CORPOICA, Ciencias y tecnologías*, 45-53.
- Pérez, L., Saquero, M., & Beltrán, J. (2003). Caracterización morfológica y patogénica de *Colletotrichum* sp. Como agente causal de la antracnosis en ñame *Dioscorea* sp. *Colombiana de Biotecnología Universidad Nacional de Colombia*, 5(1), 24-35.
- Perfect, S., Hughes, H., O'Connell, R., & Gree, J. (1999). A Model Genus for Studies on Pathology and Fungal-Plant Interactions. *Fungal Genet Biol.*, 27, 186-198.
- Pinzón, Y. A., Bustamante, S. L., & Buitrago, G. (2013). Differential molecular diagnosis *Colletotrichum gloeosporioides* and *Fusarium oxysporum* in yam (*Dioscorea* sp.). *Revista Colombiana de Biotecnología*, 15(1), 52-60.
- Ragazzo, A., Coria, T., Ramírez, L.; Ortiz, I., Cabanillas., & Calderón, M. (2015). Control of antracnose in mango (*Mangifera indica* L.) var. ataulfo by high hydrostatic pressure combined with moderated temperature and the biocontrol agent candidat famata. *Sylwan*. 159:448-460.
- Rebouca, A. (2002). Aspectos sobre la producción de mango. Curso Internacional de mango. *Ciudad de Guatemala*, 20-23.
- Reuveni, M., y Sheglov, D. (2002). Efectos de la azoxistrobina, el difenoconazol, la polioxina B (polar) y la trifloxistrobina en la germinación y el crecimiento de *Alternaria alternata* y en la descomposición de la fruta de manzana roja deliciosa. *Protección de cultivos*, 21 (10), 951-955.
- RIMAC. (2015). Rímac propiconazol 25EC (En línea). Consultado el 11 de diciembre del 2018. Formato PDF. Disponible en: <http://rimacsa.co.cr/>
- Ríos, M. (2010). Control biológico de la antracnosis (*Colletotrichum gloeosporoides* Penz) en tomate de árbol (*Solanum betaceum*), en el ecotipo: Amarillo punton,

mediante hongos endofitos antagonistas. Consultado el 11 de enero del 2019.
 Formato PDF. Disponible en:
<https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/3806/1/UPS-CT001974.pdf>

- Rodríguez, S., Gonzáles, J., & Mayek, N. (2009). La infección de *Colletotrichum gloeosporioides* Penz, y Sacc. en aguacatero (*Persea americana* Mill.): Aspectos bioquímicos y genéticos. *Mexicana de Fitopatología, Ciudad Obregón*, 27(1), 53-63.
- Rodríguez, S., Cárdenas, E., Hernández, S., Guitierrez, A., & Pere, N. (2013). Análisis de la infección de *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. & Sacc. de frutos de aguacatero. *scielo*. Recuperado el 29 de octubre de 2018, de <http://www.scielo.br/pdf/rbf/v35n3/a29v35n3.pdf>
- Salazar, A. (1998). Evaluación de fungicidas contra antracnosis (*Colletotrichum gloeosporioides*) en maracuyá y diagnóstico de sus enfermedades fungosas en Olancho, Honduras. *Tegucigalpa, Honduras*, 55.
- Salcedo, D. (2007). Sensibilidad in Vitro de *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) a fungicidas orgánicos derivados de extractos vegetales. Consultado el 26 de febrero del 2019. Formato PDF. Disponible en: <file:///C:/Users/hp/Downloads/CNCA-2007-84.pdf>
- Saldarriaga, A., Castaño, J., & Arango, R. (2008). Caracterización del agente causante de la antracnosis en tomate de árbol, manzano y mora. *Rev. Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales*, 32(123), 145-156.
- Saldarriaga, A., Bernal, J., & Tamayo, P. (1997). Enfermedades del cultivo del tomate de árbol en Antioquia: Guía de reconocimiento y control. *Boletín Técnico, Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (Corpoica); C.I.*, 8-10.
- Santamaria, F., Díaz, R., & Gutiérrez, O. (2011). Control de dos especies de *Colletotrichum* causantes de antracnosis en frutos de papaya Maradol. *Merida-Yucatan Cienc. Agríc.*, 2, 5.
- Sartorato, A. (2006). Sensibilidad "in vitro" de aislados de *Colletotrichum lindemuthianum* a fungicidas. *Pesquisa Agropecuária Tropical (Agricultural Research in the Tropics)*, 211-213.
- Spadaro, D., & Gullino, M. (2004). State of the art and future prospects of the biological control of postharvest fruit disease. *Int. J. Food Microbiol.* 91:185-194.
- Sutton, B. (1992). The Coelomycetes fungi imperfecti with pyrenidia acervuli and stromata. Commonwealth Mycological Institute. Kew, Surrey, England
- Syngenta. (2018). Amistar Top. (En línea). Consultado el 11 de diciembre del 2018. Formato PDF. Disponible en: <https://www.syngenta.com.co/>
- Silva, J., Chaves, T., & Da Silva, A. (2017). Molecular and morpho-cultural characterization of *Colletotrichum* spp. associated with anthracnose on *Capsicum* spp. in northeastern Brazil. *Tropical Plant Pathology*, 42-315.

- Syngenta. (2018). Amistar Top. (En línea). Consultado el 11 de diciembre del 2018. Formato PDF. Disponible en: <https://www.syngenta.com.co/>
- Tabares, F. (2002). Evaluación in Vitro de diferentes compuestos químicos agrícolas para el control de los hongos *Colletotrichum gloeosporioides* y *C. acutatum*, causantes de la antracnosis de los cítricos. Trabajo de grado para optar con el título de Microbiólogo Industrial. Pontificia Universidad Javeriana. Facultad de ciencias básicas.
- Talhinhas, P., Sreenivasaprasad, S., Olivera, H., Molecular, & Phenotypic. (2005). analyses reveal association of diverse *Colletotrichum acutatum* groups and a low level of *C. gloeosporioides* with olive anthracnose. *Applied and Environmental Microbiology*, Washington, 71(6), 2987-2998.
- Tozze, J., Fischer, I., & Camarado, M. (2010). First report of *Colletotrichum boninense* infecting yellow passion fruit (*Passiflora edulis f. flavicarpa*) in Brazil. *Australasian Plant Disease*, 70-72. doi:10.171/Dn10025
- Tozze, J., Firmin, C., Fischer, I., Furtado., & Massola, N. (2016). Caracterización de la agresividad y la actividad enzimática de *Colletotrichum* spp. aisladas asociadas con antracnose in avocado. *Summa Phytopathologica*, 42 (3), 264-267.
- Ueno, B., & Ferreira, M. (2001). Levantamento das principais doenças do mamoeiro (*Carica papaya* L.) na região de Barreiras, BA. *Fitopatologia Brasileira*, 26-386.
- Valdés, A., Calero, D., Carballo, E., Capote, M., González, I., & Alvarez, J. (2017). Caracterización morfológica, cultural y patogénica de aislados de *Colletotrichum* sp. Produciendo antracnosis en mango (*Mangifera indica* L.). LA GRANJA. *Revista de Ciencias de la Vida*, 26(2), 38-51.
- Volcy, C. (2008). Génesis y evolución de los postulados de Koch y su relación con la fitopatología. Una revisión. *Agronomía Colombiana*, 26(1), 107-115.
- Villanueva, R., Hernández, A., Yáñez, M., Téliz, O., Mora, A., Cárdenas, E., & Castañeda, Á. (2005). Caracterización e identificación de *Colletotrichum fragariae* en frutos de chirimoya. *Agrociencia*, 39(1).
- Weir, S., Johnston, P., & Damm, U. (2012). El complejo de especies de *Colletotrichum gloeosporioides* . *Estudios en Micología*, 73, 115-180.
- Zapata, F., & Cardona, N. (2012). Lo que debemos saber sobre los métodos de sensibilidad a los antifúngicos. *Rev CES*, 71-83.
- Zea, T., & Edwin, L. (2014). *Efecto del sulfato de cobre pentahidratado sobre patógenos foliares en tres densidades poblacionales en el cultivo de arroz (Oryza sativa L.)*.
- Zhang, N., Castlebury, L. A., Miller, A. N., Huhndorf, S. M., Schoch, C. L., Seifert, K. A., & Sung, G. H. (2006). An overview of the systematics of the

Sordariomycetes based on a four-gene phylogeny. *Mycologia*, 98(6), 1076-1087.

ANEXOS

Anexo 1. Recolección de frutas en estudio infestadas por antracnosis y guardados en una funda plástica con sus respectivas etiquetas para ser llevados al laboratorio.



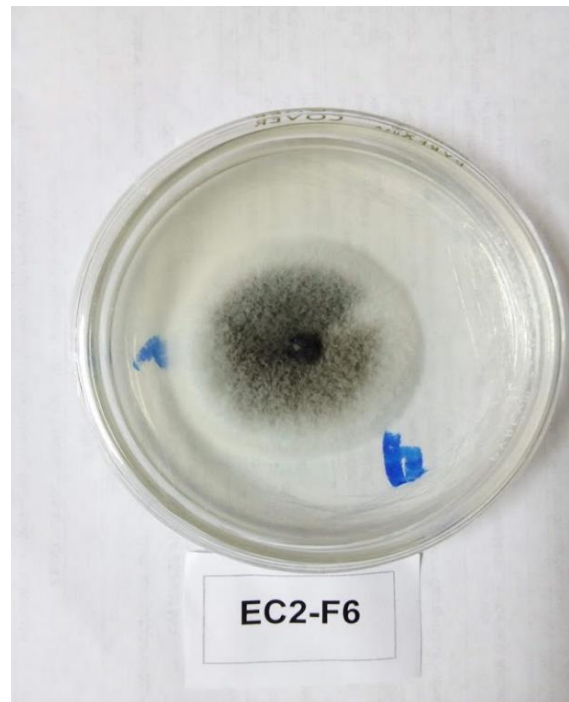
Anexo 2. Desinfección de los frutos con agua y jabón líquido y secados con toallas absorbentes y obtención de pequeños pedazos diminutos de tejidos infestados por antracnosis.



Anexo 3. Desinfección de los tejidos infestados obtenidos en alcohol e hipoclorito de sodio y siembra del aislado en un medio de cultivo PDA(papa dextrosa agar).



Anexo 4. Aislamiento y purificación del hongo de interés obtenido de los frutos en estudio (maracuyá, mango y papaya).



Anexo 5. Medición del crecimiento diario del hongo con un vernier y su respectiva caracterización de cada unidad experimental