

UCUENCA

Universidad de Cuenca

Facultad de Ciencias Agropecuarias

Carrera de Ingeniería Agronómica

Evaluación in vitro de biofungicidas y ácido salicílico frente a fungicidas químicos para el control de antracnosis en tomate de árbol

Trabajo de titulación previo a la obtención del título de Ingeniero Agrónomo

Autor:

María José Torres Gómez

Director:

Patricio Salvador Castro Quezada

ORCID:  0000-0002-2366-2256

Cuenca, Ecuador

2023-05-30

Resumen

La antracnosis conocida como “ojo de pollo”, causada por el hongo fitopatógeno *Colletotrichum sp.*, el cual se encuentra ampliamente distribuido en las zonas productoras; siendo así la enfermedad más importante ya que el patógeno a más de atacar a los frutos en cualquier estado fenológico también ataca a las hojas, ramas y el conjunto de inflorescencias, reduciendo de esta manera la vida productiva del árbol hasta en un 50%. La presente investigación tiene por objetivo evaluar, en condiciones in vitro, biofungicidas y ácido salicílico frente a productos químicos para el control de la antracnosis en tomate de árbol. Para ello se tomaron muestras de 12 predios los cuales se encontraron distribuidos en las provincias de Azuay, Loja y Cañar. Para la recolección los frutos presentaron las características de la enfermedad como lesiones negras, acompañados de masas de conidios de coloración rosada. Dichas muestras fueron sometidas al aislamiento y purificación para realizar las pruebas de inhibición. Se evaluó utilizando la variable porcentaje de inhibición del crecimiento micelial (PICM); los tratamientos evaluados fueron ácido salicílico 0.4mM, *Bacillus subtilis* 5ml/L, *Bacillus pumilus* 5ml/L, pyraclostrobin 13.3% + epoxiconazole 5% 1ml/L, captan 1g/L, difenoconazol 0.75ml/L, e iprodione 1ml/L más un tratamiento control. A nivel in vitro, el ácido salicílico inhibió el crecimiento micelial de *Colletotrichum sp.* de las muestras recolectadas en las provincias de Azuay, Loja y Cañar, mientras que el tratamiento T5 (captan) inhibió el crecimiento micelial en las muestras de Azuay y Loja en las localidades de Don Julo, Urdaneta y Saraguro.

Palabras clave: ácido salicílico, biofungicidas, antracnosis

Abstract

Anthracnose known as "chicken eye", caused by the phytopathogenic fungus *Colletotrichum* sp, which is widely distributed in production areas, is the most important disease, since the pathogen not only attacks the fruit at any phenological stage but also the leaves, branches and inflorescences, thus reducing the productive life of the tree by up to 50%. The aim of the present investigation was to evaluate, under in vitro conditions, biofungicides and salicylic acid against chemical products for the control of anthracnose in tree tomato. Samples were taken from 12 farms distributed in the provinces of Azuay, Loja and Cañar. For the collection, the fruits presented the characteristics of the disease as black lesions, accompanied by masses of pink conidia. These samples were subjected to isolation and purification for inhibition tests. The treatments evaluated were salicylic acid 0.4mM, *Bacillus subtilis* 5ml/L, *Bacillus pumilus* 5ml/L, pyraclostrobin 13.3% + epoxiconazole 5% 1ml/L, captan 1g/L, difenoconazole 0.75ml/L, and iprodione 1ml/L plus a control treatment. At the in vitro level, salicylic acid inhibited mycelial growth of *Colletotrichum* sp. from samples collected in the provinces of Azuay, Loja and Cañar, while the T5 treatment (captan) inhibited mycelial growth in samples from Azuay and Loja in the localities of Don Julo, Urdaneta and Saraguro.

Keywords: salicylic acid, biofungicides, anthracnose

Índice de contenido

Introducción.....	11
Objetivos	13
2.1 Objetivo general	13
2.2 Objetivos específicos	13
Revisión bibliográfica	14
3.1 Tomate de árbol (<i>Solanum betaceum</i> Cav.)	14
3.1.1 Origen	14
3.1.2 Descripción botánica	14
3.1.3 Genotipos y variedades	14
3.1.4 El cultivo de tomate en el Ecuador	15
3.2 Antracnosis	15
3.2.1 Generalidades	15
3.2.2 El género <i>Colletotrichum</i> sp. como responsable de la antracnosis.....	15
3.2.3 Taxonomía del género <i>Colletotrichum</i>	16
3.3 Especies responsables de la antracnosis en tomate de árbol.	16
3.3.1 <i>Colletotrichum acutatum</i>	16
3.3.2 <i>Colletotrichum gloesporioides</i>	16
3.3.3 <i>Colletotrichum tamarilloi</i>	17
3.4 Sintomatología	17
3.5 Manejo integrado de la enfermedad.....	17
3.5.1 Ácido salicílico.....	17
3.5.1.1 Mecanismo de acción del Ácido Salicílico	17
3.5.1.2 Resistencia mediada por ácido salicílico	18
3.5.2 <i>Bacillus subtilis</i>	18
3.5.3 <i>Bacillus pumilus</i>	18
3.5.4 Pyraclostrobin 13.3% + epoxiconazole 5%.....	19
3.5.5 Captan	19
3.5.6 Difenconazol	19
3.5.7 Iprodione	19
Materiales y métodos.....	21

4.1 Descripción del área de estudio	21
4.2 Materiales y equipos	21
4.3 Métodos.....	22
4.3.1 Metodología para la investigación experimental del objetivo 1	22
4.3.1.1 Recolección y aislamiento de <i>Colletotrichum</i>	22
4.3.1.2 Caracterización morfológica.....	23
4.3.1.3 Coloración de la colonia	23
4.3.1.4 Crecimiento de la colonia.....	23
4.3.1.5 Forma del micelio	23
4.3.1.6 Caracterización microscópica	23
4.3.1.7 Prueba de patogenicidad	24
4.3.2 Metodología para la investigación experimental del objetivo 2	24
4.3.2.1 Instalación de los tratamientos.....	24
4.3.2.2 Evaluación del porcentaje de inhibición.....	25
4.3.2.3 Toma de datos.....	26
4.3.2.4 Métodos para el procesamiento de datos.....	26
4.3.2.5 Diseño experimental.....	26
Resultados	27
5.1 Recolección y aislamiento del hongo	27
5.2 Caracterización morfológica	27
5.2.1 Índice de crecimiento	27
5.2.2 Coloración de la colonia.....	27
5.2.3 Tipo de micelio	27
5.2.4 Forma del conidio.....	27
5.3 Porcentaje de inhibición del crecimiento micelial.....	32
Discusión.....	36
Conclusiones.....	38
Recomendaciones	39
Referencias	40
Anexos	43

Índice de figuras

Figura 1. Mapa de ubicación de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad de Cuenca.....	21
Figura 2. Variabilidad morfológica de los aislados de <i>Colletotrichum</i> sp recolectados en la provincia del Azuay.....	29
Figura 3. Variabilidad morfológica de los aislados de <i>Colletotrichum</i> sp recolectados en la provincia de Loja.....	30
Figura 4. Efecto de los tratamientos sobre la incidencia de antracnosis a los 21 días de las muestras recolectadas en la provincia del Azuay.....	32
Figura 5. Efecto de los tratamientos sobre la incidencia de antracnosis a los 21 días de las muestras recolectadas en la provincia de Loja.....	34
Figura 6. Efecto de los tratamientos sobre la incidencia de antracnosis a los 21 días de las muestras recolectadas en la provincia de Cañar.....	35
Figura 7. Fruto contaminado con <i>Colletotrichum</i> sp.....	43
Figura 8. Desinfección del fruto.....	43
Figura 9. Inoculación del hongo <i>Colletotrichum</i> sp. en frutos de tomate.....	43
Figura 10. Crecimiento del hongo a los 4 días.....	44
Figura 11. aislamiento del hongo.....	44
Figura 12. Caracterización morfológica.....	44
Figura 13. Desinfección de muestras para pruebas de patogenicidad.....	45
Figura 14. Establecimiento de pruebas de patogenicidad.....	45
Figura 15. Pruebas de patogenicidad a los 4 días.....	45
Figura 16. Pruebas de patogenicidad a los 15 días.....	46
Figura 17. Pruebas de patogenicidad a los 25 días.....	46

Índice de tablas

Tabla 1. Materiales y equipos utilizados en el desarrollo de la investigación.	21
Tabla 2. Códigos y ubicaciones de los aislados <i>Colletotrichum</i> sp. recolectados en las provincias de Azuay, Loja y Cañar.	22
Tabla 3. Descripción de los tratamientos a evaluar.	25
Tabla 4. Caracterización morfológica de las muestras recolectadas en la provincia del Azuay.	28
Tabla 5. Caracterización morfológica de las muestras recolectadas en la provincia de Loja.	30
Tabla 6. Caracterización morfológica de las muestras recolectadas en la provincia de Cañar.	31
Tabla 7. Datos correspondientes a la evaluación de los 8 tratamientos de la muestra recolectada en la localidad 1 de la provincia del Azuay (Naste).	47
Tabla 8. Datos correspondientes a la evaluación de los 8 tratamientos de la muestra recolectada en la localidad 2 de la provincia del Azuay (Tomebamba).	48
Tabla 9. Datos correspondientes a la evaluación de los 8 tratamientos de la muestra recolectada en la localidad 3 de la provincia del Azuay (San Francisco).	49
Tabla 10. Datos correspondientes a la evaluación de los 8 tratamientos de la muestra recolectada en la localidad 4 de la provincia del Azuay (Tablahuayco).	50
Tabla 11. Datos correspondientes a la evaluación de los 8 tratamientos de la muestra recolectada en la localidad 5 de la provincia del Azuay (Don Julo).	51
Tabla 12. Datos correspondientes a la evaluación de los 8 tratamientos de la muestra recolectada en la localidad 6 de la provincia del Azuay (Sacre).	52
Tabla 13. Datos correspondientes a la evaluación de los 8 tratamientos de la muestra recolectada en la localidad 1 de la provincia de Loja (Urdaneta).	53
Tabla 14. Datos correspondientes a la evaluación de los 8 tratamientos de la muestra recolectada en la localidad 2 de la provincia de Loja (Saraguro).	54
Tabla 15. Datos correspondientes a la evaluación de los 8 tratamientos de la muestra recolectada en la localidad 3 de la provincia de Loja (Saraguro).	55
Tabla 16. Datos correspondientes a la evaluación de los 8 tratamientos de la muestra recolectada en la localidad 1 de la provincia de Cañar (Biblián).	56
Tabla 17. Datos correspondientes a la evaluación de los 8 tratamientos de la muestra recolectada en la localidad 2 de la provincia de Cañar (Cañar).	57

Tabla 18. Datos correspondientes a la evaluación de los 8 tratamientos de la muestra recolectada en la localidad 3 de la provincia de Cañar (Suscal).....58

Agradecimientos

Quiero agradecer de manera especial a mi director de tesis el Ing. Patricio Castro PhD., quien me dió la oportunidad para poder desarrollar este tema; también por haberme apoyado, instruido y compartido sus conocimientos para poder concluir esta investigación.

Dedicatoria

Este trabajo lo dedico con todo mi amor a mis padres Marcos y Narcisa que, aunque físicamente ya no estén a mi lado siempre fueron la más grande motivación para alcanzar mis sueños. De igual manera a mi esposo Rafael, mi hijo Nicolás y mi hermana María Eulalia por su apoyo incondicional para conseguir esta meta tan anhelada.

Introducción

El tomate de árbol, *Solanum betaceum* Cav., es una planta nativa de América del Sur. Su centro de origen más probable son las selvas y los bosques de la zona ubicada en la reserva del Tucumano entre Bolivia y el noreste de Argentina (Guamán, 2018). Debido a la diversidad genética encontrada en el norte de Perú y el sur de Ecuador estos países son considerados como centros de domesticación de esta planta (Revelo, 2004). En el Ecuador se cultivan alrededor de 2706.4 ha las cuales se encuentran distribuidas en las provincias de Imbabura, Tungurahua, Carchi, Chimborazo, Azuay y Loja (MAG, 2018).

La producción del tomate de árbol se ha visto afectada debido al ataque de hongos fitopatógenos dentro de los cuales se destaca la antracnosis causada por *Colletotrichum sp*, el cual se encuentra ampliamente distribuido en las zonas productoras, siendo así la enfermedad más importante ya que el patógeno a más de atacar a los frutos en cualquier estado fenológico también ataca a las hojas, ramas y el conjunto de órganos de inflorescencia, reduciendo de esta manera la vida productiva del árbol hasta en un 50% (Alarcon & Chavarriaga, 2007). Las lesiones se presentan de color oscuro y varían en tamaño y forma. En los frutos las lesiones son negras, deprimidas y acompañadas de masas de conidios de color rosa (Castro, 2019). Estudios realizados en Ecuador muestran que la antracnosis puede alcanzar pérdidas entre el 60 y 100% de la producción, además que los factores ambientales como lluvia y viento son claves para diseminar la enfermedad (Viera & Sotomayor, 2015). La mayor incidencia se presenta en épocas lluviosas, con temperaturas entre 13 a 15 °C y una humedad ambiental del 95 % (León, 2004).

El manejo de la enfermedad está basado en la aplicación de fungicidas en distintas combinaciones, frecuencias, dosis y formulaciones, con aplicaciones tipo calendario (Alarcon & Chavarriaga, 2007). No obstante, el uso de plaguicidas de manera inadecuada trae como consecuencia que los residuos se dispersen en el ambiente y se conviertan en contaminantes para los sistemas biótico y abiótico amenazando su estabilidad y representando un peligro para la salud de la población (Martínez, 2010).

Una de las alternativas para disminuir el ataque de la antracnosis es el uso de biofungicidas cuya materia activa es un microorganismo antagonista el cual inhibe e invade el crecimiento y la germinación de esporas, provee una barrera física para que los patógenos no se establezcan sobre la superficie de los tejidos, promueve la secreción de fitohormonas, no afectan la fauna benéfica, se degradan fácilmente y poseen un bajo riesgo para la salud (Melgarejo, 2006). El uso del ácido salicílico contribuye a reducir la incidencia de enfermedades y plagas en los cultivos, ya que es el mensajero interno natural de las plantas

el cual activa los mecanismos de defensa cuando la planta está siendo atacada por un patógeno. Es uno de los compuestos claves para la estimulación de las defensas en las plantas por su capacidad sistémica de moverse y estimular a la planta a protegerse (Delgado, 2014).

En la presente investigación se evaluó en condiciones *in vitro* la efectividad de los biofungicidas y el ácido salicílico frente a fungicidas químicos convencionales, desarrollando así nuevas estrategias para el control la enfermedad las cuales utilicen productos amigables con el medio ambiente y la salud de la población.

Objetivos

2.1 Objetivo general

- Evaluar, en condiciones *in vitro*, biofungicidas y ácido salicílico frente a fungicidas químicos para el control de antracnosis en tomate de árbol.

2.2 Objetivos específicos

- Obtener de las cepas de *Colletotrichum* a partir de un aislamiento monosporal.
- Determinar cuál de los tratamientos presenta mayor efectividad.

Revisión bibliográfica

3.1 Tomate de árbol (*Solanum betaceum* Cav.)

3.1.1 Origen

El tomate de árbol (*Solanum betaceum* Cav.) es nativo de América del Sur; su centro de origen más probable son las selvas y los bosques de la zona ubicada en la reserva del Tucumano entre Bolivia y el noreste de Argentina (Guamán, 2018). Debido a la diversidad genética encontrada en el norte de Perú y el sur de Ecuador estos países son considerados como centros de domesticación de esta planta (Revelo, 2004)

3.1.2 Descripción botánica

León (2004), describe al tomate de árbol como una planta que tiene un sistema radicular fasciculado de consistencia semi leñosa, presenta una mayor concentración de raíces absorbentes en los primeros 50 cm de profundidad. Posee un tronco cilíndrico leñoso que se divide en tres ramas a un rango de altura de 1.00 a 1.50 m, pudiendo alcanzar alturas entre 2.50 y 3.00 m. Sus hojas son perennes, alternas, simples, enteras, de forma ovada y ápice agudo con pubescencia moderada en el haz y más densa en el envés. La inflorescencia es de tipo cima o racimo, se desarrollan en las axilas de las hojas o sobre ellas, pueden estar conformadas en grupos de hasta 40 flores, que tienen todas sus estructuras bien diferenciadas, son hermafroditas con polinización cruzada. El fruto es una baya, de forma ovalada, ovoide o redonda, provisto de un pedúnculo largo. Existen colores muy diversos siendo estos amarillos, rojos, morados y anaranjados, dependiendo de su genotipo. Las semillas son aplanadas, miden de 2 a 4 mm de largo, de color blanco amarillento, cubiertas de pigmentos anaranjados, rojizos o morados intensos que darán la tonalidad al jugo de la fruta. Las semillas se hallan inmersas en un mucílago gelatinoso y su número varía entre 200 a 300 unidades en los diferentes cultivares (Toapanta, 2018).

3.1.3 Genotipos y variedades

En el Ecuador no existe una clasificación clara de los genotipos del tomate de árbol, que son cultivados, lo que ha dado lugar a confusiones en su denominación. También se puede señalar que no existen variedades propiamente dichas, con excepción del híbrido Mora introducido desde Nueva Zelanda, obtenido del cruzamiento entre el Rojo Puntón y el Negro Silvestre Lojano. Las principales variedades conocidas son: Amarillo, Negro, Redondo, Puntón (común), Rojo, Amarillo Gigante, Mora (neozelandés) y Mora Ecuatoriano (Colimba & Morales, 2011).

3.1.4 El cultivo de tomate en el Ecuador

El Ecuador presenta zonas climáticas favorables para el cultivo de tomate, se cultiva en altitudes que van desde los 1000 hasta los 3000m.s.n.m bajo un rango de temperatura que oscila entre los 8°C hasta los 26°C, precipitaciones de 500 a 2500 mm anuales y humedades relativas del 60 al 80% (Colimba & Morales, 2011). De acuerdo al desarrollo y mayor capacidad exploratoria de las raíces, el tomate de árbol requiere suelos de textura franco, con pH ligeramente ácido a neutro 6-7, con buen contenido de materia orgánica (4-5%) y mediana profundidad (50cm) (León, 2004).

Las provincias con mayor producción de tomate de árbol son: Imbabura (1243,7 ha), Tungurahua (814.6 ha), Carchi (451.3 ha), Chimborazo (132.6 ha) y Azuay (64.2 ha). Lo que nos da un total de 2706.4 ha cultivadas en el Ecuador (MAG, 2018).

3.2 Antracnosis

3.2.1 Generalidades

Agrios (2005), señala que la antracnosis es una enfermedad del follaje, tallos o frutos que aparecen como manchas grandes o pequeñas de colores oscuros, o lesiones ligeramente sumidas que posee un contorno elevado. Además de las manchas foliares, la antracnosis tiene una etapa inicial prolongada en la infección de los frutos y pueden producir la muerte descendente de las ramas de las plantas, se presenta con gran severidad sobre los árboles frutales, los síntomas aparecen como pequeñas manchas que poseen superficies corchosas salientes. La antracnosis en los frutos con frecuencia produce la caída y pudrición de éstos. Es una de las enfermedades fúngicas más importantes del cultivo de tomate de árbol debido a su amplia distribución y por la magnitud de las pérdidas que ocasiona cuando no se aplican las medidas de control las pérdidas pueden llegar al 100 % de la producción (Revelo, 2004). La mayor incidencia de la enfermedad se presenta en épocas lluviosas con temperaturas que oscilan entre 13 a 15 °C y una humedad ambiental del 95 %. (León, 2004). Climas cálidos y húmedos favorecen el desarrollo, reproducción y diseminación de la enfermedad (Maita, 2011).

3.2.2 El género *Colletotrichum sp.* como responsable de la antracnosis

Colletotrichum se encuentra en un grupo de hongos fitopatógenos responsables de una enfermedad que se conoce con el nombre de antracnosis, es uno de los géneros patógenos más importantes y de mayor distribución en el mundo ya que ataca especialmente a los cultivos de las regiones tropicales y subtropicales (Pérez, Saquero, & Beltrán, 2003). Las especies de este género son consideradas como las más exitosas dentro de los hongos patógenos de las plantas debido a que puede afectar gran parte de los tejidos, órganos y frutos en desarrollo (Ríos, 2010).

3.3.3 Taxonomía del género *Colletotrichum*

La taxonomía del género *Colletotrichum* es confusa, hay cerca de 900 especies descritas o asignadas a *Colletotrichum*. Su identificación ha sido estudiada en base a sus características morfológicas, culturales y conidiales siendo estas cilíndricas o elípticas; es por ello que se recomienda utilizar pruebas moleculares como la relación en cadena de la polimerasa (PCR), análisis de ADN ribosomal; estos métodos han sido utilizados exitosamente para diferenciar poblaciones de *Colletotrichum* (Ríos, 2010).

Lalangui (2015), expone la siguiente taxonomía:

Reino: *Fungi*

Filum: *Ascomycota*

Subfilum: *Pezizomycotina*

Clase: *Sordariomycetes*

Familia: *Glomerellaceae*

Género: *Colletotrichum*

3.3 Especies responsables de la antracnosis en tomate de árbol.

3.3.1 *Colletotrichum acutatum*

Colletotrichum acutatum, es una de las especies más frecuentemente reportadas del género *Colletotrichum* y causa la enfermedad comúnmente conocida como antracnosis en numerosas especies hospederas en todo el mundo. La característica morfológica mejor conocida de esta especie, es la forma de sus conidias, las cuales se caracterizan por tener al menos un lado punteado, de ahí que se les denomine como fusiformes o elipsoides. Estas, son usualmente producidas dentro de acérvulos que se forman en el tejido del hospedero y son dispersadas por la lluvia. El tamaño promedio de las conidias es de 8.5 - 16.5 x 2.5 - 4 µm. Las colonias que produce este patógeno en medio de cultivo son usualmente blancas en sus inicios y posteriormente se cubren con masas conidiales de coloración roja a naranja (Barrera, 2018).

3.3.2 *Colletotrichum gloeosporioides*

Las conidias de los aislados de *Colletotrichum gloeosporioides* son cilíndricas con un extremo redondeado y el otro agudo y un tamaño que varía entre 7-8 micras y 3-4 micras de ancho (Pérez, Saquero, & Beltrán, 2003). Las colonias en medio de cultivo PDA, son extremadamente variables, presentando un color gris a marrón, con manchas rosadas (Barrera, 2018). Presenta un patrón de crecimiento radial, formando entre 6 a 7 anillos concéntricos; debido a la maduración del acérvulo, en el centro de la colonia se forman masas

conidiales dispersas de color anaranjado observándose a los 5 o 6 días de crecimiento, el contorno de la colonia es de forma irregular con un micelio algodonoso (Ángel, 2018).

3.3.3 *Colletotrichum tamarilloi*

Colletotrichum tamarilloi en medio PDA, la colonia presenta un color blanco pálido a gris oliváceo en la superficie anterior y posterior con abundantes masas conidiales de color rosa-salmón cerca del centro (Caicedo, y otros, 2017). Presenta apresorios simples con una longitud que varía de 5.49 a 10.25 μm , de paredes lisas y forma clavata, a partir de los cuales surgen las hifas vegetativas hialinas de 1 a 5.5 μm de color marrón pálido, de pared lisa, septadas y ramificadas. Las conidias generalmente tienen un tamaño de 10 a 14.18 μm , son septadas de forma cilíndrica y aguda (Barrera, 2018).

3.4 Sintomatología

Los síntomas de la enfermedad se presentan con agresividad, en toda la planta, aunque es más evidente en el fruto; presentan lesiones iniciales negras que pueden llegar a cubrirlo completamente, posee bordes definidos y el centro hundido; bajo condiciones de alta humedad relativa y precipitaciones continuas, el centro de la lesión adquiere una coloración que va desde rosa a salmón, misma que corresponde a la formación de esporas del hongo. Los frutos se secan o momifican y pueden caer al suelo o permanecer adheridos al árbol. La enfermedad es diseminada por el viento, lluvia e insectos (Gallegos, 2008).

3.5 Manejo integrado de la enfermedad

3.5.1 Ácido salicílico

El ácido salicílico (AS) es una hormona vegetal que forma parte de un amplio grupo de compuestos denominados fenólicos, está presente en todos los órganos vegetales y desempeña un papel fundamental en la regulación del crecimiento, desarrollo e interacción de las plantas con otros organismos patógenos, así como en la inducción de defensa de las plantas frente a diferentes tipos de estrés sean estos producidos por efectos ambientales adversos o el ataque de organismos patógenos (Intagri, 2018).

3.5.1.1 Mecanismo de acción del Ácido Salicílico

El ácido salicílico (AS) es el mensajero interno natural de las plantas. Lo que significa que cuando una planta es atacada por un organismo externo, sea este una plaga o enfermedad la planta genera una señal de alerta que indica que está siendo atacada y que debe protegerse. Se sabe que el AS aplicado externamente tiene un efecto activador de resistencia; pero su vida dentro de la planta es muy corta debido a que es inmovilizado en la pared celular, por lo cual se vuelve necesaria su aplicación durante el ciclo de vida del cultivo con el objetivo

de mantener niveles altos de resistencia. El AS es altamente móvil en la planta y puede ser aplicado de manera foliar o en el riego; no tiene un efecto directo sobre las plagas o enfermedades y le toma a la planta entre 4 a 7 días para elevar sus defensas e inducir a la resistencia (Salazar, 2021).

3.5.1.2 Resistencia mediada por ácido salicílico

La resistencia sistémica adquirida (SAR) es el fenómeno por el cual tras una infección local se activan sistemas de defensa no específicos en otros puntos de la planta que todavía no han sido infectados, este fenómeno está mediado por fitohormonas, fundamentalmente por AS. La respuesta de las plantas a las infecciones causadas por patógenos biotrófos es regulada por el AS mientras que la respuesta a patógenos necrótrofos es mediada por otra fitohormona, el ácido jasmónico (JA). A bajas concentraciones, ambas hormonas pueden actuar de forma sinérgica, activando ambas respuestas, pero a concentraciones mayores tienen funciones antagonistas. Otras hormonas como el etileno (ET) o el ácido abscísico (ABA) pueden modular la respuesta, pero no generan la respuesta de resistencia (Sánchez, 2017).

3.5.2 *Bacillus subtilis*

Bacillus subtilis es una bacteria Gram positiva, comúnmente encontrada en el suelo; tiene la habilidad para formar una resistente endospora protectora, permitiendo al organismo tolerar condiciones ambientalmente drásticas; presenta un mecanismo de acción preventivo que impide el desarrollo de enfermedades causadas principalmente por hongos fitopatógenos como *Botrytis*, *Oídio*, *Colletotrichum sp.* y *Mycosphaerella fijiensis*, produce sustancias del tipo bacilysin e iturin que son altamente fungitóxicos, y al instalarse en las raíces y hojas induce a la planta a producir fitoalexinas que le dan resistencia al ataque de hongos, además, crea una zona de interferencia en la zona de adherencia del patógeno, frena la germinación de esporas interrumpiendo su crecimiento (Rodríguez, 2021).

3.5.3 *Bacillus pumilus*

Es una bacteria esporulante, aerobia o anaerobia facultativa, Gram positiva, con bajo contenido en G y C en su genoma. *Bacillus pumilus* crece como una colonia lisa que se vuelve amarilla conforme avanza el tiempo de incubación, tiene actividades fungicidas y han sido usadas como agentes de control biológico de hongos fitopatógenos inhibiendo la germinación de esporas por la formación de barreras físicas, actúa interrumpiendo el metabolismo celular destruyendo las paredes celulares de los patógenos en diferentes sitios y causando la destrucción total de los mismos. Su modo de acción lo convierte en un efectivo fungicida capaz de evitar el desarrollo de resistencia de los patógenos (Pineda, 2018).

3.5.4 Pyraclostrobin 13.3% + epoxiconazole 5%

Pyraclostrobin ®.

Es un fungicida con acción preventiva, curativa erradicante, actúa inhibiendo los estados tempranos de desarrollo del hongo desde la germinación de la espора hasta la formación del apresorio. Su acción curativa erradicante provoca la desintegración de las cadenas de esporas, inhibiendo considerablemente la esporulación, también actúa bloqueando el abastecimiento de energía de la célula del hongo y sus funciones vitales posteriores. Al mismo tiempo deja de funcionar el sistema de bombeo de la membrana celular y el sitio de acción es a nivel cadena respiratoria dentro de la mitocondria (Portilla, 2017).

Epoxiconazole

Es un fungicida del grupo químico de los triazoles de ingrediente activo Epoxiconazole. Su modo de acción es inhibir la información del ergosterol, que es bloqueado exitosamente la acción de la desmetilasa por un acoplamiento superior en el complejo mono-oxigenasa a los triazoles por su alta afinidad al oxígeno el cual es abastecido por el anillo epóxido de su ingrediente activo. Este fungicida tiene toxicidad categoría IV cuidado (Portilla, 2017).

3.5.5 Captan

Es un fungicida protectante y erradicante, de amplio espectro y absorción por vía radical y foliar, combate diversas enfermedades causadas por hongos, se obtienen un efectivo control cuando se aplica a niveles bajos de infección (Palma, 2014). Reacciona con las enzimas sulfhídricas con producción de tiofosfano, sustancia tóxica para las células del hongo, e interfiere el proceso de respiración celular por lo que inhibe la germinación de esporas y dificulta el crecimiento y desarrollo micelial. Es un inhibidor multisitio ya que actúa directamente sobre el hongo (Rojas, 2020).

3.5.6 Difenconazol

El difenconazol es un fungicida perteneciente al grupo de los triazoles, efectivo contra un amplio rango de enfermedades pertenecientes a las familias de ascomycetos, basidiomycetos y deutermycetos. Tiene propiedades sistémicas locales y alta translaminaridad. Tiene acción protectante (preventiva), curativa y erradicante. Inhibe significativamente el desarrollo del crecimiento subcuticular del micelio del hongo y de esa manera previene el desarrollo de la enfermedad (Mena & Pesántez, 2009).

3.5.7 Iprodione

Es un fungicida de contacto con acción protectante y curativa sobre un amplio rango de enfermedades fungosas; impide la división celular, inhibiéndose la síntesis de ADN y ARN,

en consecuencia, inhibe la germinación de las esporas, interfiere en el desarrollo de los cuerpos reproductivos y bloquea el desarrollo del micelio, evitando así las infecciones de las enfermedades en los cultivos (García & Almádoz, 2010).

Materiales y métodos

4.1 Descripción del área de estudio

El presente trabajo se desarrolló en el laboratorio de fitopatología de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad de Cuenca, ubicado en el campus Yanuncay, en la provincia del Azuay a 2567m.s.n.m, cuyas coordenadas UTM son 2°55'12.6"S 79°01'30.6"W.

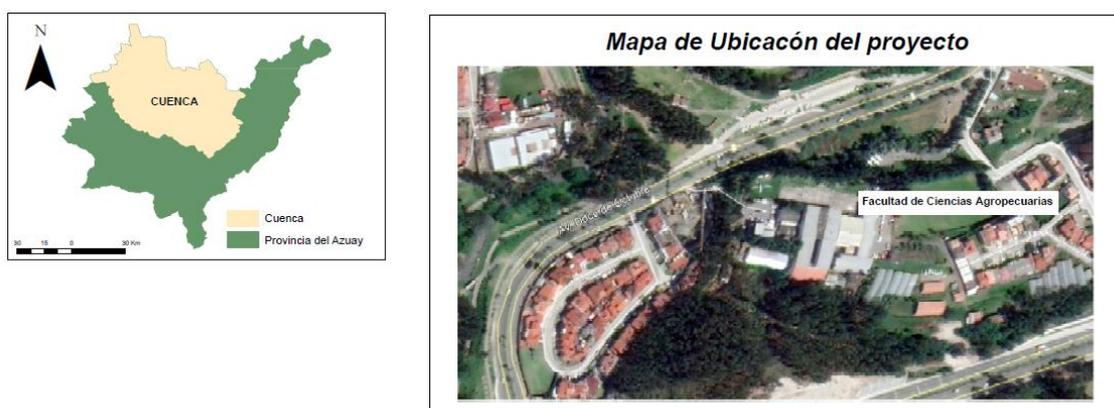


Figura 1. Mapa de ubicación de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad de Cuenca.

Elaborado por: La autora.

4.2 Materiales y equipos

Para desarrollar el presente trabajo de investigación se emplearon materiales físicos, químicos, biológicos e informáticos detallados a continuación (Tabla 1).

Tabla 1. Materiales y equipos utilizados en el desarrollo de la investigación.

Biológicos	Físicos	Laboratorio
Frutos de <i>Solanum betaceum</i>	Libreta de campo, cámara fotográfica,	Mandil, guantes,
Cepas <i>Colletotrichum</i>	fundas plásticas,	maskarilla
Medios de cultivo PDA	Cinta rollo film adherente, etiquetas,	papel absorbente estéril.
	frascos de vidrio.	
Equipos	Reactivos	Programas
Incubadora	Agua destilada	Word
Balanza de precisión	Alcohol	Excel
Autoclave	Azul de metileno	Infostat
Cámara de flujo laminar	Hipoclorito de sodio	Infinity analyze
Cajas Petri	Ácido salicílico	ArcGIS
Mechero de alcohol	Bacillus subtilis	
Pinzas	Bacillus pumilus	
Bisturí	Pyraclostrobin 13.3% + epoxiconazole	
Microscopio	5%	
Asa de platino	Captan	
	Difenoconazol	
	Iprodione	

4.3 Métodos

4.3.1 Metodología para la investigación experimental del objetivo 1

4.3.1.1 Recolección y aislamiento de *Colletotrichum*

Para obtener de las cepas de *Colletotrichum* a partir de un aislamiento monosporal se procedió a realizar la recolección de muestras en donde los aislamientos se obtuvieron a partir de frutos infectados de tomate de árbol los cuales fueron recolectados en 12 predios distribuidos 6 en la provincia de Azuay, 3 en Loja y 3 en Cañar, en donde se asignó un código a cada muestra (Tabla 2).

Los frutos para su recolección presentaron características típicas de la enfermedad como lesiones negras, acompañadas de masas de conidios de coloración rosada, para la recolección de las muestras se utilizaron fundas plásticas selladas, las cuales fueron guardadas en una caja de icopor y colocadas en refrigeración hasta llevarlas al laboratorio.

Tabla 2. Códigos y ubicaciones de los aislados *Colletotrichum sp.* recolectados en las provincias de Azuay, Loja y Cañar.

Código	Localización (Sector - Provincia)	Tejido afectado	Coordenadas UTM
A-L1	Naste, Azuay	Fruto	758789 – 9697164
A-L2	Tomebamba, Azuay	Fruto	757262 – 9695809
A-L3	San Francisco, Azuay	Fruto	759005 – 9693158
A-L4	Tablahuayco, Azuay	Fruto	761076 – 9696888
A-L5	Don Julo, Azuay	Fruto	760683 – 9697542
A-L6	Sacre, Azuay	Fruto	759450 – 9696171
L-L1	Urdaneta, Loja	Fruto	700019 – 9601173
L-L2	Saraguro, Loja	Fruto	699734 – 9600518
L-L3	Saraguro, Loja	Fruto	694686 – 9599480
C-L1	Biblián, Cañar	Fruto	734089 - 9704154
C-L2	Cañar, Cañar	Fruto	731694 - 9716048
C-L3	Suscal, Cañar	Fruto	717475 - 9730724

Una vez trasladadas las muestras al laboratorio se realizó el protocolo de desinfección que consistió en lavar las muestras con agua y jabón antibacterial, luego se colocaron los frutos en recipientes para desinfectarlos por inmersión en hipoclorito de sodio al 3% durante 1.5 minutos y finalmente se enjuagaron por tres ocasiones con agua destilada estéril con el objetivo de eliminar los residuos del desinfectante que pueden afectar el desarrollo del patógeno. En vasos de precipitado se colocó papel absorbente esterilizado y empapado con agua destilada esterilizada para generar humedad; de esta manera se desarrolló cámaras

húmedas en donde se depositó una muestra por localidad y finalmente se procedió a sellar y rotular para dejarlas incubar a temperatura ambiente durante 4 días. Transcurrido este tiempo se procedió a realizar una identificación del hongo para ello se tomó una pequeña muestra del crecimiento con una cinta transparente para luego colocarla en un porta objetos con una gota de azul de metileno para observarla en el microscopio y verificar que se trate de *Colletotrichum sp.* o que la muestra no se encuentre contaminada. Posterior a la identificación en la cámara de flujo laminar se realizó la siembra del hongo en cajas petri con medio de cultivo PDA (Potato Dextrose Agar), con el asa de platino se tomó una pequeña porción del hongo y se colocó en la mitad de la caja, las muestras se colocaron en la incubadora en la oscuridad a ± 25 °C durante 7 días.

4.3.1.2 Caracterización morfológica

Transcurridos los 7 días los aislados se purificaron en subcultivos, para ello se tomó una porción de 5mm en las áreas de esporulación activa cerca del borde de crecimiento y se sembró en cajas Petri con medio PDA con tres repeticiones, los aislados fueron colocados en la incubadora a ± 25 °C durante 7 días. Las variables evaluadas fueron: coloración de la colonia, crecimiento, forma del micelio y características microscópicas como la forma del conidio.

4.3.1.3 Coloración de la colonia

La coloración de la colonia fue evaluada mediante una observación directa, en donde se registró la coloración de cada aislado; mismos que fueron clasificados como blanco, salmón y verde olivo.

4.3.1.4 Crecimiento de la colonia

Para la variable de crecimiento de las colonias se evaluaron mediante la toma de datos cada dos días del crecimiento radial del hongo por un periodo de 8 días.

4.3.1.5 Forma del micelio

La evaluación de la forma del micelio de los aislados se realizó mediante una observación directa, registrando el tipo de micelio que presenta cada aislado; mismos que fueron clasificados de la siguiente manera: NA= no algodonoso, LA= ligeramente algodonoso, MA= moderadamente algodonoso y AA= abundantemente algodonoso.

4.3.1.6 Caracterización microscópica

Para evaluar las características microscópicas del hongo se tomó una pequeña porción del crecimiento con una cinta transparente la cual se colocó en un porta objetos con una gota de

azul de metileno y se observó en el microscopio. Los conidios se clasificaron según su forma en donde 0= conidios con los dos extremos redondos, 1= conidios con un extremo redondo y otro agudo (mixtos) y 2= conidios con los dos extremos agudos.

4.3.1.7 Prueba de patogenicidad

Para las pruebas de patogenicidad de los aislados se utilizaron frutos verdes los cuales fueron lavados con agua y jabón antibacterial, luego se colocaron en recipientes para desinfectarlos por inmersión en hipoclorito de sodio al 3% durante 1.5 minutos y finalmente se enjuagaron por tres ocasiones con agua destilada estéril, se colocaron en la cámara de flujo laminar para secarlos. Los frutos se inocularon mediante el método de inoculación por herida en donde se colocó una porción del inóculo del hongo; los frutos fueron colocados en cámaras húmedas e incubados a temperatura ambiente, a partir de los 4 días se empezó a observar los primeros síntomas los cuales se presentaron como pequeñas manchas de aproximadamente 5mm de diámetro de coloración oscura con un crecimiento mínimo de micelio, a los 10 días de la inoculación las manchas fueron de aproximadamente 4 cm con un crecimiento abundante de micelio de coloración blanca y a los 25 días de la inoculación la formación de acérvulos de color salmón fue evidente; al igual las lesiones se deprimieron ligeramente, característica inconfundible de una antracosis también conocida como “ojo de pollo” causada por *Colletotrichum sp.* y la formación de un micelio típicamente veloso.

4.3.2 Metodología para la investigación experimental del objetivo 2

4.3.2.1 Instalación de los tratamientos

Se empleó la metodología de dilución en plato con agar la cual consistió en preparar el medio de cultivo PDA con la solución de los tratamientos a evaluar, para medir la concentración de los productos líquidos se utilizó jeringuillas de insulina estériles y para los productos en polvo se utilizó la balanza de precisión. Para cada tratamiento se preparó 1L de PDA separados en botellas de vidrio de 500 ml cada una, estas fueron esterilizadas en autoclave para posterior a ello en condiciones de asepsia en la cámara de flujo laminar realizar la disolución de cada tratamiento con el medio de cultivo utilizando la técnica de Edington et al., descrita por (Mena & Pesántez, 2009), la cual consistió en adicionar la dosis comercial de los fungicidas a evaluar en una botella de vidrio con el medio de cultivo PDA. Para realizar una correcta homogenización de los tratamientos con el medio se agitó suavemente, luego se colocó en cajas petri cada uno de los tratamientos; con la ayuda de un saca bocados de 5 mm se tomó porciones iguales de cada uno de los aislados por localidad y se sembró en la mitad de la caja de los diferentes tratamientos con tres repeticiones cada uno (Tabla 3).

Tabla 3. Descripción de los tratamientos a evaluar.

Tratamientos	Descripción	Dosis
T1	Ácido salicílico	0.4 mM
T2	<i>Bacillus subtilis</i>	5.00 ml/L
T3	<i>Bacillus pumilus</i>	5.00 ml/L
T4	Pyraclostrobin 13.3% + epoxiconazole 5%	1.00 ml/L
T5	Captan	1.00 g/L
T6	Difenoconazol	0.75 ml/L
T7	Iprodione	1.00 ml/L
T8	Control	0

La selección de los diferentes tratamientos se realizó en base a revisiones de literatura en donde se evaluó ácido salicílico en una concentración de 0.4 mM recomendada en la investigación realizada por Cabrera (2021), en donde a dicha concentración se mostró un mayor desprendimiento de hojas y frutos con tejido contaminado. La dosis de *Bacillus subtilis* se tomó en base a recomendaciones realizadas por Aguirre (2018), en donde evaluó una concentración de 5ml/L para el control de *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. en la floración del mango aplicada en campo con un intervalo de siete días entre aplicación en horas frescas (mañana) obteniendo como resultado un 94.5 % de reducción del ataque del hongo. Mena et al. (2009), al evaluar alternativas de control de para la antracnosis en tomate de árbol recomienda dentro de los tratamientos biológicos el uso de *Bacillus pumilus* en una concentración de 5ml/L. Para los grupos de tratamientos químicos evaluados en la investigación se trabajó con las dosis recomendadas por las casas comerciales.

4.3.2.2 Evaluación del porcentaje de inhibición

Después de la inoculación del hongo de *Colletotrichum sp.* de las diferentes localidades con los tratamientos a evaluarse, se registró el crecimiento del diámetro del micelio fúngico a los 7, 14 y 21 días.

El porcentaje de inhibición del crecimiento micelial se calculó en base al tratamiento control utilizado en la investigación; para ello se empleó la fórmula recomendada por Pariona et al. (2018), en donde:

PICM (%): es el porcentaje de inhibición del crecimiento.

$$\text{PICM (\%)} = \left(\frac{D_c - D_t}{D_c} \right) * 100$$

D_c (cm): es el crecimiento del diámetro del hongo en el tratamiento control.

D_t (cm): es el crecimiento del diámetro del hongo en los tratamientos.

4.3.2.3 Toma de datos

Se registró los datos a los 7, 14 y 21 días, a partir de la instalación de los tratamientos. Se llevó un registro de las medias del diámetro del crecimiento de cada tratamiento en cm en relación con el crecimiento del tratamiento control.

4.3.2.4 Métodos para el procesamiento de datos

Posterior a la toma de datos fue calculado el porcentaje de inhibición del crecimiento micelial (PICM) de las diferentes localidades en estudio con sus respectivos tratamientos y repeticiones mediante la formula descrita anteriormente.

4.3.2.5 Diseño experimental

Se realizó un diseño completamente al azar (DCA), con 8 tratamientos y tres repeticiones. La unidad experimental fue cada aislamiento monosporal obtenido de las 12 localidades. Los datos obtenidos fueron sometidos a un análisis de varianza (ANOVA) para verificar si existe diferencias entre tratamientos y se aplicó la prueba Tukey ($p \leq 0.05$), empleado en el programa estadístico InfoStat.

Resultados

5.1 Recolección y aislamiento del hongo

Se obtuvieron 12 aislados monospóricos de *Colletotrichum sp.*, los cuales fueron recolectados de las provincias de Azuay, Loja y Cañar; en las localidades de Naste, Tomebamba, San Francisco, Tablahuayco, Don Julo, Sacre, Urdaneta, Saraguro, Biblián, Cañar y Suscal. En los aislados recolectados se evidenció síntomas típicos de la antracnosis en los frutos de tomate inoculados en las pruebas de patogenicidad.

5.2 Caracterización morfológica

5.2.1 Índice de crecimiento

El crecimiento de los aislados en las tres provincias fue rápido y progresivo; al llegar al día sexto el 100% de los aislados cubrieron completamente las cajas petri; su crecimiento fue de forma circular en el medio de cultivo PDA, independientemente de su especie y localidad.

5.2.2 Coloración de la colonia

Se observó tres tipos de tonalidades en las muestras provenientes de la provincia del Azuay las cuales se presentaron en un 50% de color salmón, un 33.33% blanco y un 16.67% verde olivo. Las muestras de la provincia de Loja presentaron una coloración verde olivo en un 66.67% y en un 33.33% una coloración salmón; mientras que las muestras que fueron recolectadas en la provincia del Cañar, presentaron en su totalidad una tonalidad salmón.

5.2.3 Tipo de micelio

El 25% de las muestras aisladas presentaron un micelio ligeramente algodonoso (LA); el 66.67% moderadamente algodonoso (MA) y el 8.33 un micelio abundantemente algodonoso (AA).

5.2.4 Forma del conidio

Se encontraron tres tipos de conidios en los aislados. El 16.67% de las muestras presentaron los conidios con dos extremos redondos, el 58.33% conidios con un extremo redondo y el otro agudo y el 25% conidios con dos extremos agudos.

En la tabla 4, podemos apreciar la caracterización morfológica de las muestras recolectadas en la provincia del Azuay.

Tabla 4. Caracterización morfológica de las muestras recolectadas en la provincia del Azuay.

Código	Crecimiento	Tipo de micelio	Coloración	Forma del conidio
A-L1.1	R	MA	Salmón	1
A-L1.2	R	MA	Salmón	1
A-L1.3	R	MA	Salmón	1
A-L2.1	R	MA	Verde olivo	1
A-L2.2	R	MA	Verde olivo	1
A-L2.3	R	MA	Verde olivo	1
A-L3.1	R	MA	Blanco	0
A-L3.2	R	MA	Blanco	0
A-L3.3	R	MA	Blanco	0
A-L4.1	R	MA	Blanco	1
A-L4.2	R	MA	Blanco	1
A-L4.3	R	MA	Blanco	1
A-L5.1	R	LA	Salmón	2
A-L5.2	R	LA	Salmón	2
A-L5.3	R	LA	Salmón	2
A-L6.1	R	LA	Salmón	1
A-L6.2	R	LA	Salmón	1
A-L6.3	R	LA	Salmón	1

R= rápido (1 a 5 días). LA= ligeramente algodonoso, MA= moderadamente algodonoso, AA= abundante algodonoso. 0= conidios con los dos extremos redondeados, 1= conidio con un extremo redondeado y otro agudo (mixto), 2= conidios con dos extremos agudos.

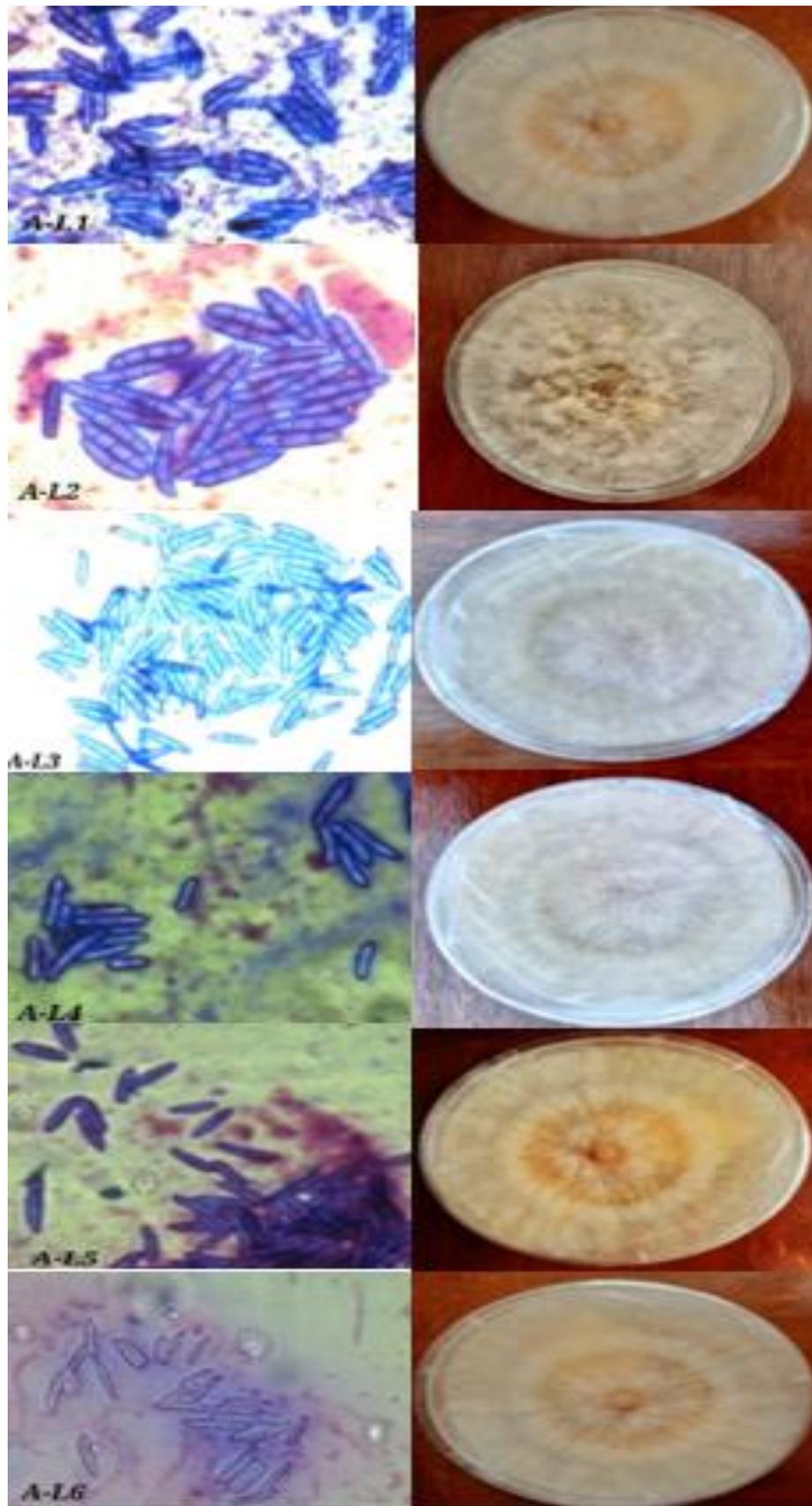


Figura 2. Variabilidad morfológica de los aislados de *Colletotrichum* sp recolectados en la provincia del Azuay.

Tabla 5. Caracterización morfológica de las muestras recolectadas en la provincia de Loja.

Código	Crecimiento	Tipo de micelio	Coloración	Forma del conidio
L-L1.1	R	AA	Salmón	1
L-L1.2	R	AA	Salmón	1
L-L1.3	R	AA	Salmón	1
L-L2.1	R	MA	Blanco	0
L-L2.2	R	MA	Blanco	0
L-L2.3	R	MA	Blanco	0
L-L3.1	R	MA	Blanco	1
L-L3.2	R	MA	Blanco	1
L-L3.3	R	MA	Blanco	1

R= rápido (1 a 5 días). LA= ligeramente algodonoso, MA= moderadamente algodonoso, AA= abundante algodonoso. 0= conidios con los dos extremos redondeados, 1= conidio con un extremo redondeado y otro agudo (mixto), 2= conidios con dos extremos agudos.

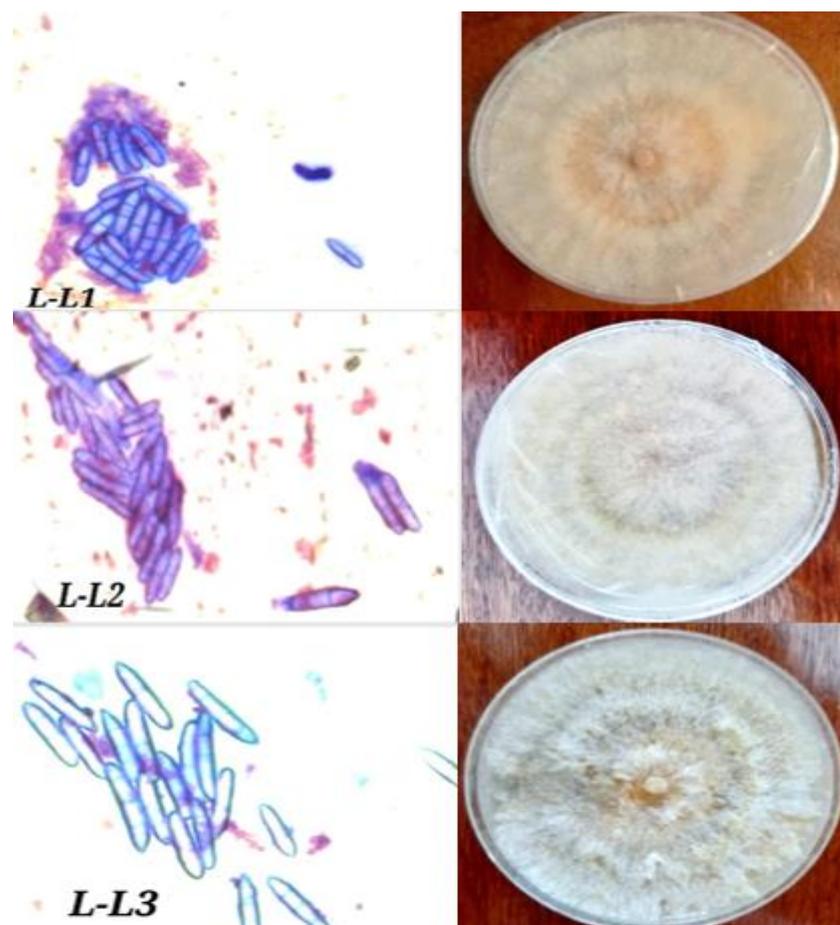


Figura 3. Variabilidad morfológica de los aislados de *Colletotrichum sp* recolectados en la provincia de Loja

Tabla 6. Caracterización morfológica de las muestras recolectadas en la provincia de Cañar.

Código	Crecimiento	Tipo de micelio	Coloración	Forma del conidio
C-L1.1	R	LA	Salmón	2
C-L1.2	R	LA	Salmón	2
C-L1.3	R	LA	Salmón	2
C-L2.1	R	MA	Salmón	2
C-L2.2	R	MA	Salmón	2
C-L2.3	R	MA	Salmón	2
C-L3.1	R	MA	Salmón	1
C-L3.2	R	MA	Salmón	1
C-L3.3	R	MA	Salmón	1

R= rápido (1 a 5 días). LA= ligeramente algodonoso, MA= moderadamente algodonoso, AA= abundante algodonoso. 0= conidios con los dos extremos redondeados, 1= conidio con un extremo redondeado y otro agudo (mixto), 2= conidios con dos extremos agudos.

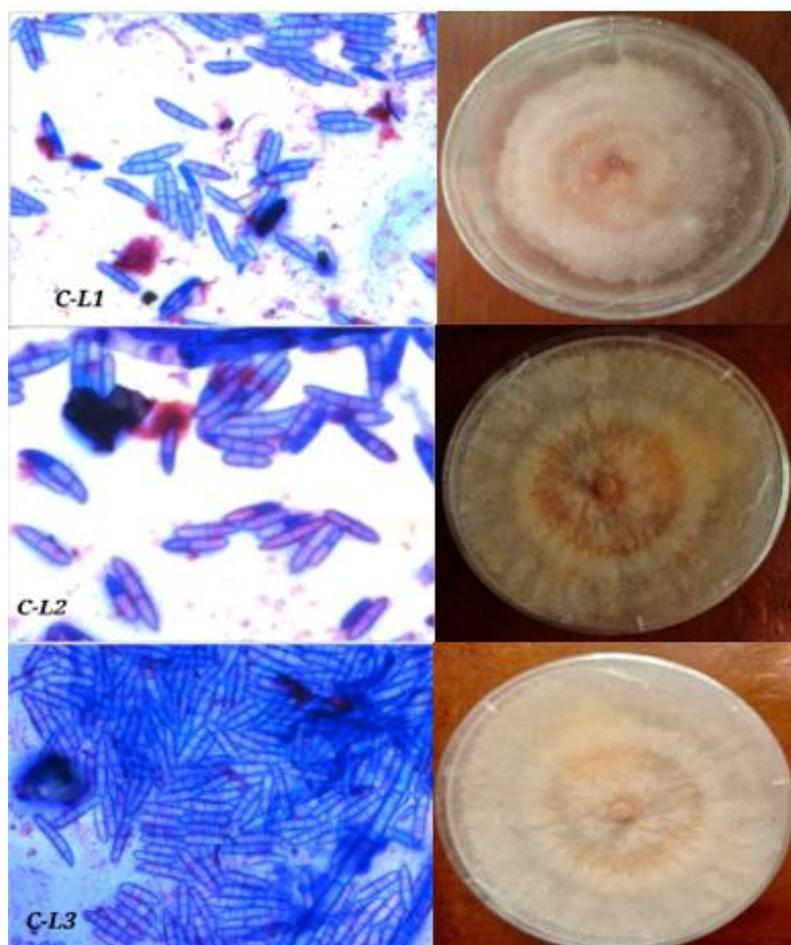
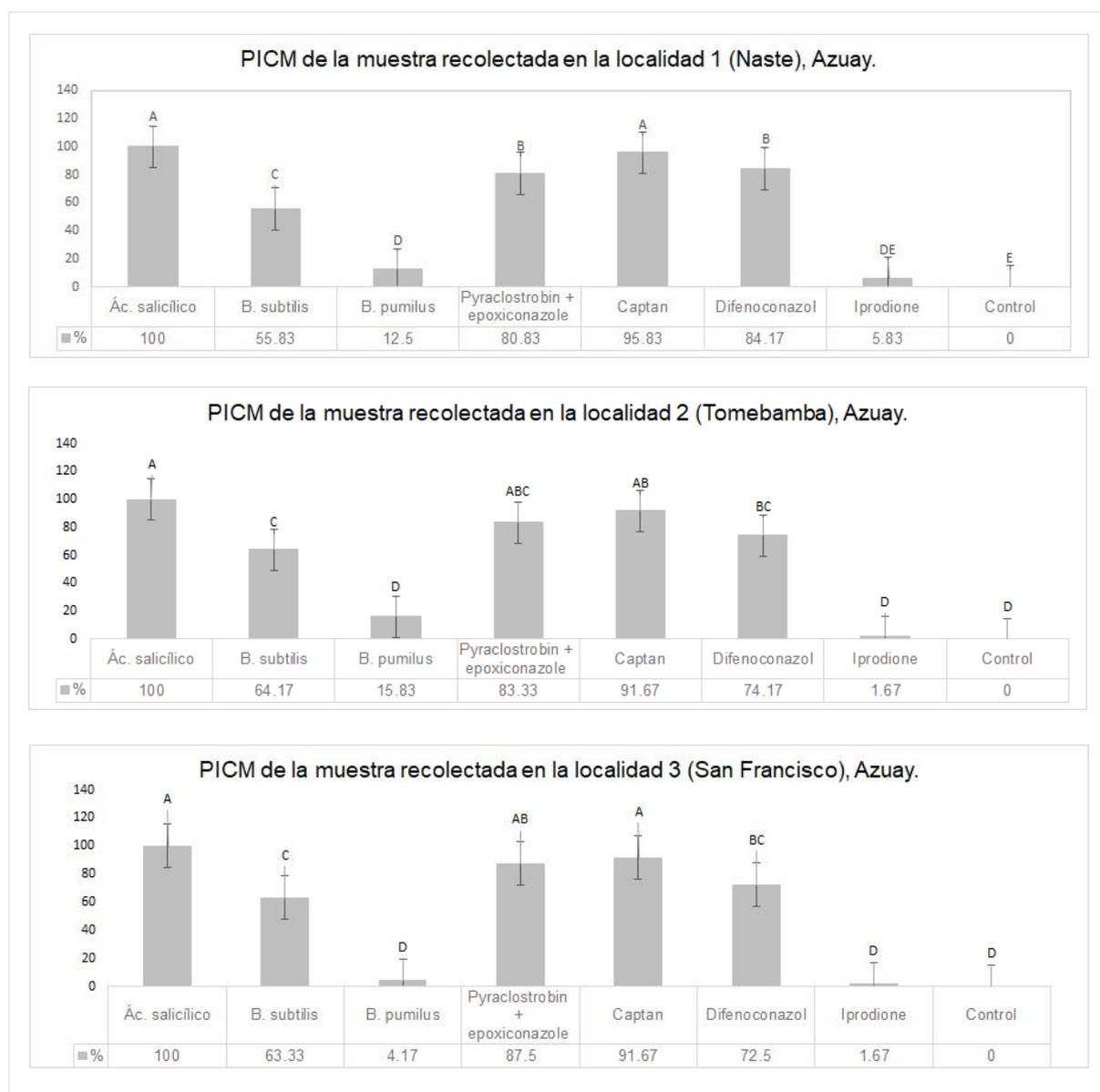


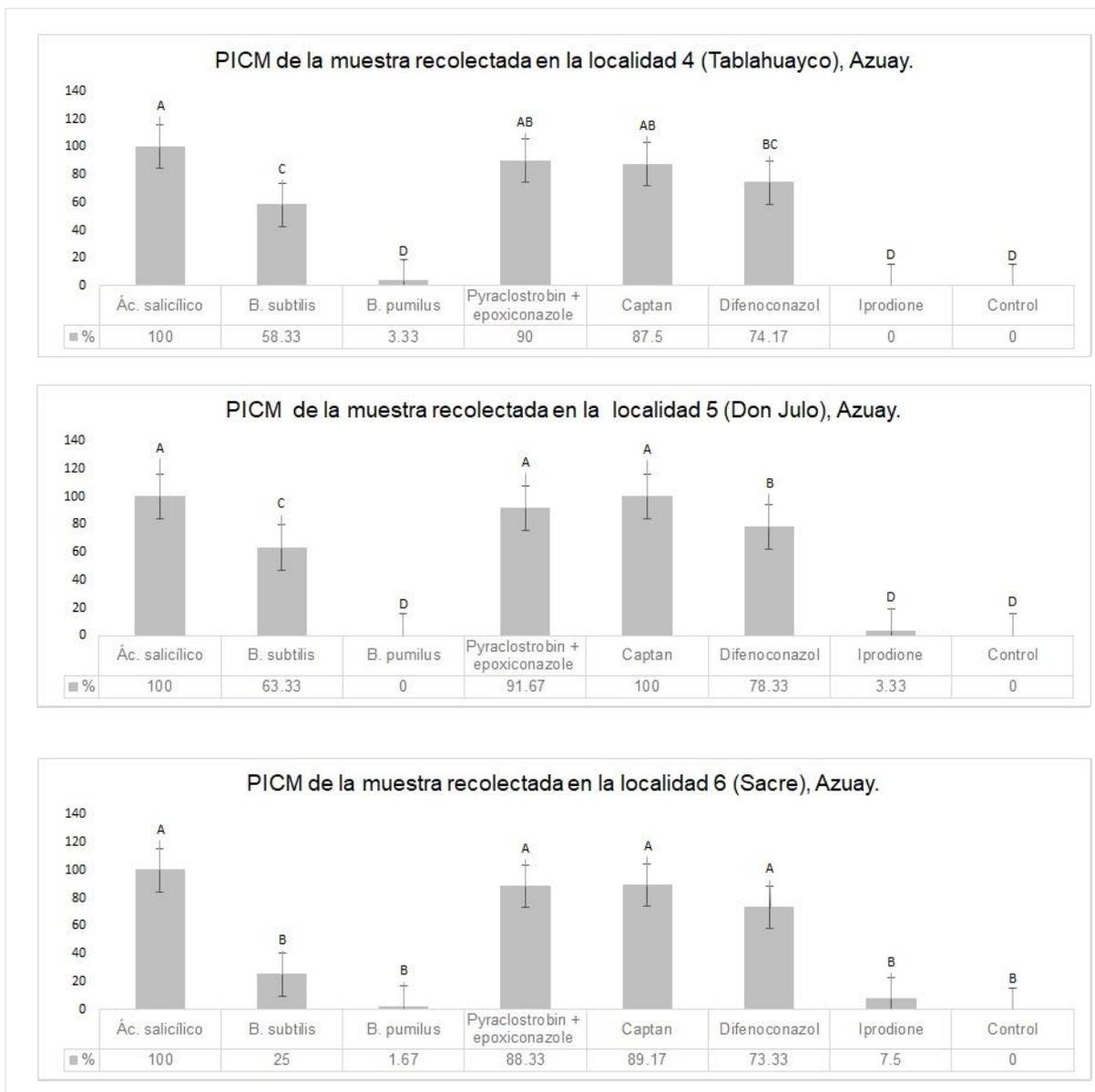
Figura 4. Variabilidad morfológica de los aislados de *Colletotrichum sp* recolectados en la provincia de Cañar.

5.3 Porcentaje de inhibición del crecimiento micelial

A continuación, se presentan los resultados obtenidos después de la aplicación de los distintos tratamientos en las muestras recolectadas en la provincia del Azuay. La prueba de Tukey ($p \leq 0.05$), a los 21 días ubica al ácido salicílico como el mejor producto para el control de la antracnosis en tomate de árbol con un 100% de inhibición del crecimiento micelial; mientras que el tratamiento a base de captan presenta el 100% de inhibición del crecimiento micelial en la localidad de Don Julo (Fig. 4).

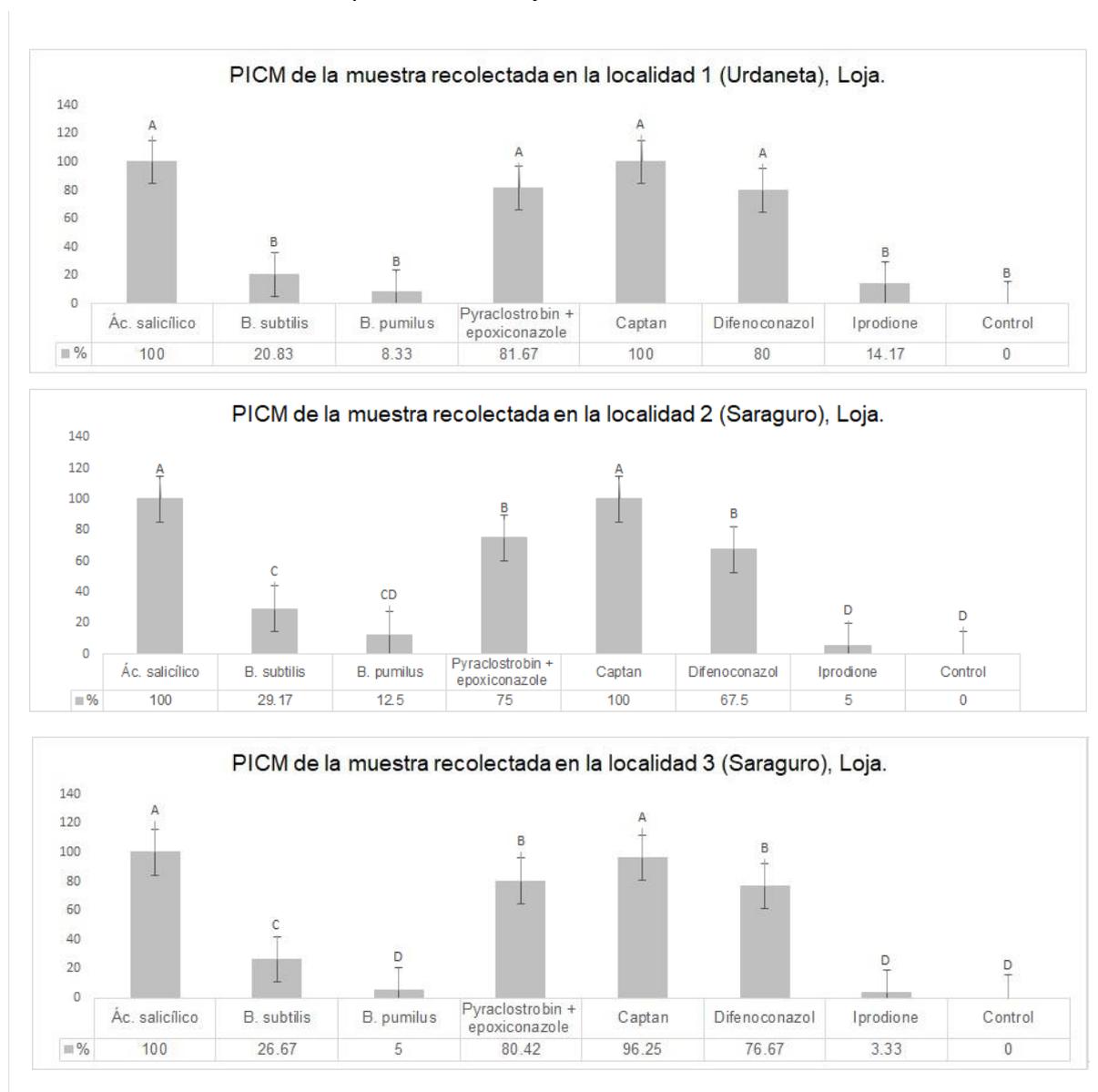
Figura 4. Efecto de los tratamientos sobre la incidencia de antracnosis a los 21 días de las muestras recolectadas en la provincia del Azuay.





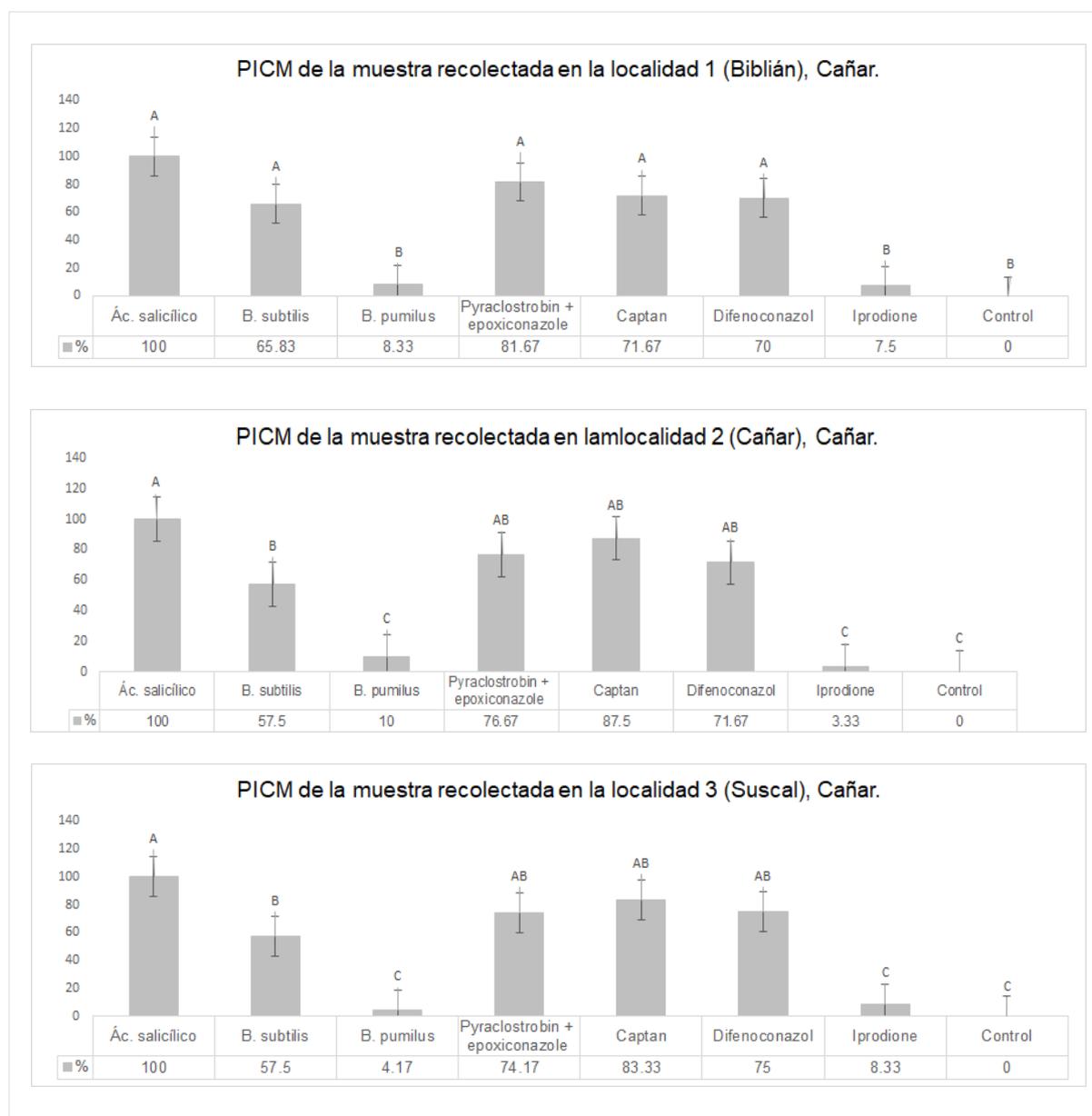
Se puede observar que existe una variación similar con los aislamientos de la provincia de Loja. A los 21 días de evaluación la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$) ubica al ácido salicílico como el mejor producto para el control de la antracnosis en tomate de árbol con un 100% de inhibición del crecimiento micelial de las muestras que provienen de las 3 localidades de la provincia; mientras que el tratamiento a base de captan presenta el 100% de inhibición del crecimiento micelial en la localidad Urdaneta (L-L1) y Saraguro (L-L2). A continuación, se presentan los gráficos que representan el porcentaje de inhibición micelial para cada una de las localidades evaluadas en la provincia de Loja (Fig. 5).

Figura 5. Efecto de los tratamientos sobre la incidencia de antracnosis a los 21 días de las muestras recolectadas en la provincia de Loja.



Para las muestras recolectadas en la provincia de Cañar se puede observar que existe una variación similar de los tratamientos a los 21 días. La prueba de Tukey ($p \leq 0.05$) ubica al tratamiento T1 (ácido salicílico 0.4mM) como el mejor producto para el control de la antracnosis en tomate de árbol con un 100% de inhibición del crecimiento micelial en las 3 localidades de la provincia mientras que los demás tratamientos presentaron un porcentaje de inhibición inferior al 90% como se detalla a continuación (Fig. 6).

Figura 6. Efecto de los tratamientos sobre la incidencia de antracnosis a los 21 días de las muestras recolectadas en la provincia de Cañar.



Discusión

El presente estudio fue llevado a cabo para evaluar, en condiciones *in vitro*, biofungicidas y ácido salicílico frente a productos químicos para el control de la antracnosis en tomate de árbol y determinar cuál de los productos evaluados presenta mayor efectividad. A nivel de los ensayos *in vitro*, el tratamiento que obtuvo los mejores resultados a nivel de los aislamientos recolectados en las tres provincias fue el de ácido salicílico presentando el 100% de inhibición del crecimiento micelial a los 21 días. Resultados similares reportaron Quiróz et al. (2021), en donde se evaluó el efecto del ácido salicílico y metil jasmonato sobre *Colletotrichum sp.* en frutos de mango; al evaluar en concentraciones de 1mM de ácido salicílico se inhibió el 100% de germinación de esporas de *Colletotrichum sp.* en condiciones invitro. Por otra parte, Cabrera (2021) señala que la concentración de 0.2 mM de ácido salicílico mostró resultados significativos al disminuir la severidad de la antracnosis en los frutos de tomate de árbol y que a dosis de 0.4 mM se presentó un mayor desprendimiento de hojas y frutos con tejido contaminado, como un mecanismo de defensa de la planta hacia la enfermedad. Berumen et al. (2015), indica que al evaluar el efecto del ácido salicílico en la inducción de resistencia contra *Colletotrichum sp.* en frutos de plátano a dosis de 5 mM *in vitro*, se inhibió el crecimiento micelial en un 64,51%. Esto demuestra el efecto que posee el ácido salicílico inhibiendo el crecimiento micelial en hongos, mediante la activación de mecanismos de defensa.

El tratamiento 5 (captan 1g/L), presentó el 100% de inhibición del crecimiento micelial de *Colletotrichum sp.* a los 21 días en la provincia de Azuay en la localidad de Don Julio y en la provincia de Loja en las localidades de Urdaneta y Saraguro. Guillén et al. (2017), evaluaron la inhibición colonial *in vitro* de un aislado de *Colletotrichum acutatum* Simmonds a tratamientos con captan en dosis de 0.25 g – 0.50 g y 1.0 g/L en donde el porcentaje de inhibición fue del 100% con las tres concentraciones evaluadas; resultados similares reportan Peláez et al. (2016), en donde evaluaron el efecto sinérgico de *Trichoderma asperellum* T8A y captan 50® contra *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) en mango en donde a dosis de 0.5g/L se inhibió el 100% el crecimiento micelial del hongo. De las muestras recolectadas en la provincia de Cañar se presenta una resistencia de las cepas al fungicida captan ya que presentan un porcentaje de inhibición de 71.67%, 87,5% y 83.33% respectivamente.

La caracterización morfológica mostro que el 58.33% de los aislados evaluados en el presente estudio fueron de color salmón, el 33.33% blanco y el 8.33% verde olivo. Pinto et al. (2013), evaluaron la caracterización morfológica, patológica y molecular de la antracnosis del tomate de árbol y chocho, en donde señalan que los aislamientos presentaron un color salmón anaranjado en sus colonias. Caicedo et al. (2017), señalan al hongo *Colletotrichum*

acutatum y *Colletotrichum tamarilloi* (complejo *acutatum*), como responsable de la antracnosis en tomate de árbol ya que presentan síntomas como lesiones negras en forma de depresión en los frutos, acompañadas de lesiones con masas de esporas de color rosado, como lo evidenciamos en las pruebas de patogenicidad llevadas a cabo en el laboratorio en donde a los 25 días de la inoculación se pudo evidenciar la formación de lesiones negras en forma de depresión en los frutos, acompañadas de acérvulos de color salmón, característica inconfundible de una antracnosis también conocida como “ojo de pollo” lo cual es característico de *Colletotrichum acutatum*. La variación del color obtenida podría indicar una alta variabilidad que podría ser explicada por la preferencia del huésped por parte de la especie o por un aislado geográfico.

Conclusiones

La evaluación de la actividad antifúngica del ácido salicílico a nivel de laboratorio demuestra su efectividad para inhibir el PICM del hongo *Colletotrichum sp.* responsable de la antracnosis en tomate de árbol a nivel de las muestras recolectadas en las tres provincias.

Se determinó que el tratamiento con mayor efectividad para el control de antracnosis en tomate de árbol fue el ácido salicílico (0.4 mM) con un 100% de inhibición del crecimiento micelial.

Recomendaciones

Se sugiere realizar una caracterización morfológica tomando en cuenta más caracteres como el color, forma y presencia o ausencia de halos concéntricos, para poder diferenciar de manera más clara la especie causante de la antracnosis en tomate de árbol además de realizar aplicaciones de ácido salicílico en plantaciones establecidas en diferentes localidades para evaluar su comportamiento en condiciones no controladas, para determinar su efectividad.

Referencias

- Agrios, G. (2005). Fitopatología.
- Alarcon, J., & Chavarriaga, W. (2007). Diagnóstico precoz de la antracnosis (*Colletotrichum gloeosporioides*) (Penz) Penz & Sacc. en tomate de árbol mediante el empleo de infecciones quiescentes.
- Ángel, Y. (2018). Morfología y patogenicidad de *Colletotrichum* spp. causante de antracnosis en el cultivo de café en la finca San Pedro, Santa Ana, El Salvador.
- Barrera, S. (2018). Caracterización genotípica y de virulencia de *Colletotrichum tamarilloi* y *Colletotrichum* sp. causantes de la antracnosis en tomate de árbol.
- Berumen, G., Ochoa, V., Reginaldo, B., & Gutiérrez, P. (2015). Efecto del Ácido Salicílico en la inducción de resistencia a *Colletotrichum* sp. en frutos de plátano durante postcosecha. . México.
- Cabrera, A. (2021). Efecto del ácido salicílico en la inducción de la resistencia en tomate de árbol (*Solanum betaceum*) a la antracnosis y caracterización molecular.
- Caicedo, J., Lalangui, K., Pozo, A., Cevallos, P., Arahana, V., & Méndez, K. (2017). Multilocus molecular identification and phylogenetic analysis of *Colletotrichum tamarilloi* as the causal agent of Tamarillo (*Solanum betaceum*) anthracnose in the Ecuadorian highlands.
- Castro, P. (2019). Caracterización morfológica y molecular del agente causal de la antracnosis en tomate de árbol en Azuay y Loja.
- Colimba, J., & Morales, Á. (2011). Efecto de la aplicación de silicio en el segundo año de producción en el cultivo de tomate de árbol.
- Delgado, C. (2014). Efecto del ácido acetil salicílico para activación de defensas en el cultivo de arveja.
- Gallegos, P. (2008). Enfermedades, nematodos, e insectos plaga del tomate de arbol (*Solanum betaceum* Cav.).
- García, B., & Almándo, J. (2010). Efecto in vitro del fungicida iprodione sobre *alternaria* spp. y prospección para su inclusión en estrategias de manejo en papa, tomate, ajo y cebolla.
- Guamán, M. (2018). Caracterización morfológica, molecular y de resistencia a fungicidas de *Colletotrichum* sp., aislado de tomate de árbol (*Solanum betaceum*) .
- Guillén, D., Cadenas, C., Tejacal, I., López, V., Andrade, M., & Juárez, P. (2017). Inhibición colonial in vitro de un aislado de *Colletotrichum acutatum* Simmonds a tratamientos con fungicidas. Cuernavaca, Morelos, México: Universidad Autónoma del Estado de Morelos, Facultad de Ciencias Agropecuarias.
- Intagri. (2018). Efectos del Ácido Salicílico en los Cultivos.

- Lalangui, K. (2015). Caracterización morfológica y molecular de *Colletotrichum* spp., en tomate de árbol (*Solanum betaceum*) en la sierra ecuatoriana. Pichincha, Ecuador: Universidad Central del Ecuador.
- León, J. (2004). Manual del cultivo de tomate de arbol. (INIAP, Ed.)
- MAG. (2018). Principales provincias con mayor superficie de tomate de arbol en el Ecuador .
- Maita, S. (2011). Manejo del "ojo de pollo" o antracnosis (*Colletotrichum acutatum* Simmonds) en el cultivo de tomate de arbol (*Solanum betaceum* Cav).
- Martínez, N. (2010). Manejo integrado de plagas, una solución a la contaminación ambiental.
- Melgarejo, A. (2006). Biofungicidas y control biológico de hongos fitopatógenos: aplicación en la filósfera.
- Mena, E., & Pesántez, E. (2009). Evaluacion de alternativas de control de antracnosis (*Colletotrichum Gloeosporioides*) en tomate de árbol. Comunidad Pelileo, Pillaro, Tungurahua.
- Palma, T. (2014). Evaluacion de fungicids para el control de roya amarilla (*Puccinia striiformis* f.sp. tritici) del trigo (*Triticum aestivum* L.) Cutuglahua, Mejia.
- Pariona, N., Hermida, A., Rangel, E., Carrion, G., Lopez, D., & Duran, Z. (2018). Síntesis de nanopartículas de cobre para el control de hongos fitopatógenos.
- Peláez, A., Villalobos, S., Yépez, E., Parra, F., & Reyes, R. (2016). Efecto sinérgico de *Trichoderma asperellum* T8A y captan 50® contra *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.).
- Pérez, L., Saquero, M., & Beltrán, J. (2003). Caracterización morfológica y patogénica de *Colletotrichum* sp. como agente causal de la antracnosis en ñame *Dioscorea* sp.
- Pineda, A. (2018). Efecto de concentraciones de *Bacillus pumilus* sobre *Fusarium oxysporum* en el cultivo del ejote francés .
- Pinto, L., Tiguango, C., & Falconi, C. (2013). Caracterización Morfológica, Patológica y Molecular de la Antracnosis (*C. acutatum*) del Tomate de Árbol y Chocho.
- Portilla, J. (2017). Respuesta de las plantas de banano (*musa aaa simmonds*, cultivar williams) a las aspersiones foliares de diferentes fungicidas en el control de sigatoka negra *Mycosphaerella finjiensis* Morelet).
- Quiróz, E., Rentería, M., Ramírez, I., Moreno, S., Martínez, F., Villar, E., & Fernández, E. (2021). Efecto Del Ácido Salicílico Y Metil Jasmonato Sobre *Colletotrichum* sp. En Frutos De Mango.
- Revelo, J. (2004). Cultivo ecológico del tomate de árbol en Ecuador.

- Ríos, M. (2010). Control biológico de la antracnosis (*Colletotrichum gloesporioides* Penz) en tomate de árbol (*Solanum betaceum*), en el ecotipo amarillo puntón, mediante hongos endofitos antagonistas.
- Rodríguez, P. (2021). Compatibilidad y tiempo de sobrevivencia de tres bacterias benéficas de uso agrícola (*Bacillus thuringiensis*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus laterosporus*), en bioles.
- Rojas, G. (2020). Sencibilidad in vitro de cinco aislados de *Trichoderma* spp a fungicidas .
- Salazar, A. (2021). Efecto del ácido salicílico en combinación con el fungicida penconazol, para el control de mancha chocolate (*Botrytis fabae*). .
- Sánchez, P. (2017). Evaluación de las propiedades fungicidas del ácido salicílico frente a hongos patógenos.
- Toapanta, A. (2018). Caracterización morfológica y evaluación preliminar de tomate de árbol.
- Viera, W., & Sotomayor, A. (2015). Estimación de parámetros de calidad del fruto para segregantes interespecíficos de tomate de árbol (*Solanum betaceum* Cav.) en respuesta de resistencia a la Antracnosis (*Colletotrichum acutatum* J.H Simmonds).

Anexos

Anexo A. Fotografías



Figura 7. Fruto contaminado con *Colletotrichum sp.*



Figura 8. Desinfección del fruto.



Figura 9. Inoculación del hongo *Colletotrichum sp.* en frutos de tomate



Figura 10. Crecimiento del hongo a los 4 días.

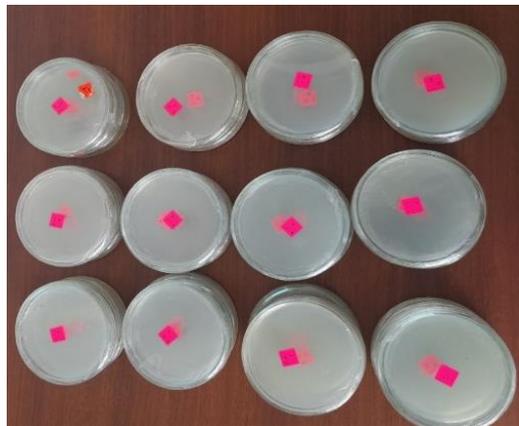


Figura 11. aislamiento del hongo.



Figura 12. Caracterización morfológica.



Figura 13. Desinfección de muestras para pruebas de patogenicidad.



Figura 14. Establecimiento de pruebas de patogenicidad.



Figura 15. Pruebas de patogenicidad a los 4 días.



Figura 16. Pruebas de patogenicidad a los 15 días.



Figura 17. Pruebas de patogenicidad a los 25 días.

Anexo B. Tablas

Tabla 7. Datos correspondientes a la evaluación de los 8 tratamientos de la muestra recolectada en la localidad 1 de la provincia del Azuay (Naste).

Tratamientos	Repeticiones	% PICM 7 días	% PICM 14 días	% PICM 21 días
T1	1	100	100	100
T1	2	100	100	100
T1	3	100	100	100
T2	1	92,5	77,5	62,5
T2	2	87,5	70	50
T2	3	80	67,5	55
T3	1	65	27,5	12,5
T3	2	52,5	25	12,5
T3	3	60	32,5	12,5
T4	1	95	85	80
T4	2	100	90	82,5
T4	3	100	87,5	80
T5	1	95	87,5	87,5
T5	2	100	100	100
T5	3	100	100	100
T6	1	97,5	92,5	85
T6	2	97,5	87,5	85
T6	3	97,5	90	82,5
T7	1	72,5	25	12,5
T7	2	60	12,5	5
T7	3	70	12,5	0
T8	1	0	0	0
T8	2	0	0	0
T8	3	0	0	0

Tabla 8. Datos correspondientes a la evaluación de los 8 tratamientos de la muestra recolectada en la localidad 2 de la provincia del Azuay (Tomebamba).

Tratamientos	Repeticiones	% PICM 7 días	% PICM 14 días	% PICM 21 días
T1	1	100	100	100
T1	2	100	100	100
T1	3	100	100	100
T2	1	90	80	62,5
T2	2	87,5	70	55
T2	3	92,5	82,5	75
T3	1	70	37,5	25
T3	2	45	25	10
T3	3	52,5	25	12,5
T4	1	97,5	92,5	85
T4	2	97,5	87,5	80
T4	3	97,5	92,5	85
T5	1	90	75	75
T5	2	100	100	100
T5	3	100	100	100
T6	1	95	87,5	72,5
T6	2	90	85	75
T6	3	92,5	85	75
T7	1	75	12,5	5
T7	2	70	12,5	0
T7	3	67,5	12,5	0
T8	1	0	0	0
T8	2	0	0	0
T8	3	0	0	0

Tabla 9. Datos correspondientes a la evaluación de los 8 tratamientos de la muestra recolectada en la localidad 3 de la provincia del Azuay (San Francisco).

Tratamientos	Repeticiones	% PICM 7 días	% PICM 14 días	% PICM 21 días
T1	1	100	100	100
T1	2	100	100	100
T1	3	100	100	100
T2	1	90	77,5	62,5
T2	2	92,5	75	65
T2	3	80	75	62,5
T3	1	52,5	0	0
T3	2	50	35	12,5
T3	3	60	15	0
T4	1	97,5	92,5	87,5
T4	2	95	92,5	87,5
T4	3	100	95	87,5
T5	1	100	100	100
T5	2	95	87,5	75
T5	3	100	100	100
T6	1	97,5	92,5	82,5
T6	2	92,5	85	70
T6	3	97,5	80	65
T7	1	47,5	12,5	0
T7	2	70	20	5
T7	3	60	12,5	0
T8	1	0	0	0
T8	2	0	0	0
T8	3	0	0	0

Tabla 10. Datos correspondientes a la evaluación de los 8 tratamientos de la muestra recolectada en la localidad 4 de la provincia del Azuay (Tablahuayco).

Tratamientos	Repeticiones	% PICM 7 días	% PICM 14 días	% PICM 21 días
T1	1	100	100	100
T1	2	100	100	100
T1	3	100	100	100
T2	1	87,5	77,5	50
T2	2	85	77,5	62,5
T2	3	87,5	87,5	62,5
T3	1	55	0	0
T3	2	57,5	20	5
T3	3	57,5	20	5
T4	1	100	100	100
T4	2	97,5	90	82,5
T4	3	97,5	92,5	87,5
T5	1	95	62,5	62,5
T5	2	100	100	100
T5	3	100	100	100
T6	1	97,5	87,5	72,5
T6	2	92,5	87,5	75
T6	3	97,5	87,5	75
T7	1	77,5	20	0
T7	2	72,5	12,5	0
T7	3	70	15	0
T8	1	0	0	0
T8	2	0	0	0
T8	3	0	0	0

Tabla 11. Datos correspondientes a la evaluación de los 8 tratamientos de la muestra recolectada en la localidad 5 de la provincia del Azuay (Don Julio).

Tratamientos	Repeticiones	% PICM 7 días	% PICM 14 días	% PICM 21 días
T1	1	100	100	100
T1	2	100	100	100
T1	3	100	100	100
T2	1	87,5	72,5	62,5
T2	2	70	67,5	65
T2	3	80	70	62,5
T3	1	32,5	12,5	0
T3	2	0	0	0
T3	3	32,5	0	0
T4	1	100	100	100
T4	2	97,5	92,5	87,5
T4	3	100	95	87,5
T5	1	100	100	100
T5	2	100	100	100
T5	3	100	100	100
T6	1	97,5	90	82,5
T6	2	92,5	82,5	70
T6	3	97,5	87,5	82,5
T7	1	70	12,5	5
T7	2	62,5	12,5	5
T7	3	80	12,5	0
T8	1	0	0	0
T8	2	0	0	0
T8	3	0	0	0

Tabla 12. Datos correspondientes a la evaluación de los 8 tratamientos de la muestra recolectada en la localidad 6 de la provincia del Azuay (Sacre).

Tratamientos	Repeticiones	% PICM 7 días	% PICM 14 días	% PICM 21 días
T1	1	100	100	100
T1	2	100	100	100
T1	3	100	100	100
T2	1	60	25	0
T2	2	90	72,5	50
T2	3	65	27,5	25
T3	1	57,5	37,5	0
T3	2	67,5	22,5	5
T3	3	62,5	22,5	0
T4	1	97,5	97,5	85
T4	2	97,5	95	92,5
T4	3	97,5	92,5	87,5
T5	1	97,5	85	80
T5	2	100	100	100
T5	3	100	95	87,5
T6	1	97,5	87,5	75
T6	2	87,5	80	70
T6	3	87,5	85	75
T7	1	72,5	22,5	5
T7	2	75	22,5	5
T7	3	80	50	12,5
T8	1	0	0	0
T8	2	0	0	0
T8	3	0	0	0

Tabla 13. Datos correspondientes a la evaluación de los 8 tratamientos de la muestra recolectada en la localidad 1 de la provincia de Loja (Urdaneta).

Tratamientos	Repeticiones	% PICM 7 días	% PICM 14 días	% PICM 21 días
T1	1	100	100	100
T1	2	100	100	100
T1	3	100	100	100
T2	1	72,5	57,5	45
T2	2	67,5	7,5	0
T2	3	70	27,5	17,5
T3	1	42,5	0	0
T3	2	52,5	22,5	12,5
T3	3	50	25	12,5
T4	1	92,5	87,5	80
T4	2	95	90	82,5
T4	3	92,5	87,5	82,5
T5	1	100	100	100
T5	2	100	100	100
T5	3	100	100	100
T6	1	97,5	85	82,5
T6	2	90	85	82,5
T6	3	92,5	85	75
T7	1	72,5	42,5	25
T7	2	77,5	25	5
T7	3	67,5	27,5	12,5
T8	1	0	0	0
T8	2	0	0	0
T8	3	0	0	0

Tabla 14. Datos correspondientes a la evaluación de los 8 tratamientos de la muestra recolectada en la localidad 2 de la provincia de Loja (Saraguro).

Tratamientos	Repeticiones	% PICM 7 días	% PICM 14 días	% PICM 21 días
T1	1	100	100	100
T1	2	100	100	100
T1	3	100	100	100
T2	1	62,5	50	42,5
T2	2	65	50	32,5
T2	3	62,5	25	12,5
T3	1	42,5	32,5	20
T3	2	47,5	25	5
T3	3	50	22,5	12,5
T4	1	92,5	90	77,5
T4	2	92,5	87,5	75
T4	3	100	87,5	72,5
T5	1	100	100	100
T5	2	100	100	100
T5	3	100	100	100
T6	1	90	87,5	62,5
T6	2	97,5	87,5	82,5
T6	3	97,5	75	57,5
T7	1	65	17,5	5
T7	2	65	12,5	5
T7	3	80	12,5	5
T8	1	0	0	0
T8	2	0	0	0
T8	3	0	0	0

Tabla 15. Datos correspondientes a la evaluación de los 8 tratamientos de la muestra recolectada en la localidad 3 de la provincia de Loja (Saraguro).

Tratamientos	Repeticiones	% PICM 7 días	% PICM 14 días	% PICM 21 días
T1	1	100	100	100
T1	2	100	100	100
T1	3	100	100	100
T2	1	65	40	12,5
T2	2	65	50	37,5
T2	3	62,5	45	30
T3	1	60	25	5
T3	2	57,5	17,5	10
T3	3	62,5	5	0
T4	1	92,5	87,5	70
T4	2	92,5	87,5	86,25
T4	3	95	92,5	85
T5	1	100	97,5	92,5
T5	2	100	97,5	96,25
T5	3	100	100	100
T6	1	100	87,5	75
T6	2	100	87,5	80
T6	3	97,5	85	75
T7	1	75	25	0
T7	2	62,5	12,5	5
T7	3	65	15	5
T8	1	0	0	0
T8	2	0	0	0
T8	3	0	0	0

Tabla 16. Datos correspondientes a la evaluación de los 8 tratamientos de la muestra recolectada en la localidad 1 de la provincia de Cañar (Biblián).

Tratamientos	Repeticiones	% PICM 7 días	% PICM 14 días	% PICM 21 días
T1	1	100	100	100
T1	2	100	100	100
T1	3	100	100	100
T2	1	90	62,5	45
T2	2	87,5	85	85
T2	3	87,5	67,5	67,5
T3	1	65	32,5	12,5
T3	2	47,5	10	0
T3	3	42,5	32,5	12,5
T4	1	90	85	80
T4	2	97,5	90	82,5
T4	3	95	85	82,5
T5	1	100	100	100
T5	2	100	97,5	70
T5	3	90	80	45
T6	1	97,5	87,5	75
T6	2	92,5	87,5	70
T6	3	95	87,5	65
T7	1	72,5	22,5	12,5
T7	2	62,5	25	5
T7	3	62,5	25	5
T8	1	0	0	0
T8	2	0	0	0
T8	3	0	0	0

Tabla 17. Datos correspondientes a la evaluación de los 8 tratamientos de la muestra recolectada en la localidad 2 de la provincia de Cañar (Cañar).

Tratamientos	Repeticiones	% PICM 7 días	% PICM 14 días	% PICM 21 días
T1	1	100	100	100
T1	2	100	100	100
T1	3	100	100	100
T2	1	87,5	70	50
T2	2	90	90	90
T2	3	80	55	32,5
T3	1	60	52,5	20
T3	2	55	37,5	10
T3	3	25	12,5	0
T4	1	100	90	80
T4	2	95	90	75
T4	3	95	87,5	75
T5	1	100	100	100
T5	2	95	92,5	87,5
T5	3	92,5	82,5	75
T6	1	92,5	87,5	75
T6	2	90	85	75
T6	3	95	87,5	65
T7	1	40	5	0
T7	2	65	12,5	5
T7	3	62,5	15	5
T8	1	0	0	0
T8	2	0	0	0
T8	3	0	0	0

Tabla 18. Datos correspondientes a la evaluación de los 8 tratamientos de la muestra recolectada en la localidad 3 de la provincia de Cañar (Suscal).

Tratamientos	Repeticiones	% PICM 7 días	% PICM 14 días	% PICM 21 días
T1	1	100	100	100
T1	2	100	100	100
T1	3	100	100	100
T2	1	87,5	87,5	87,5
T2	2	75	52,5	35
T2	3	87,5	67,5	50
T3	1	45	5	0
T3	2	65	37,5	12,5
T3	3	30	0	0
T4	1	95	85	72,5
T4	2	95	87,5	75
T4	3	95	87,5	75
T5	1	100	100	100
T5	2	100	100	100
T5	3	92,5	77,5	50
T6	1	87,5	82,5	75
T6	2	92,5	87,5	75
T6	3	92,5	85	75
T7	1	57,5	12,5	5
T7	2	70	25	12,5
T7	3	62,5	25	7,5
T8	1	0	0	0
T8	2	0	0	0
T8	3	0	0	0