

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERIA AGRONÓMICA



**“AISLAMIENTO Y CARACTERIZACIÓN DE HONGOS ENDÓFITOS DEL
CAFETO (*Coffea arabica* L.) COMO BIOCONTROLADOR DE LA ROYA
AMARILLA (*Hemileia vastatrix* Berk. & Br.) Y PROMOTOR DE CRECIMIENTO
EN SAN JUAN DEL ORO”**

TESIS

PRESENTADA POR:

GIOVANA MAMANI HUAYHUA

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

INGENIERO AGRÓNOMO

PROMOCIÓN: 2016-I

PUNO – PERÚ

2017

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERIA AGRONÓMICA

“AISLAMIENTO Y CARACTERIZACIÓN DE HONGOS ENDÓFITOS DEL CAFETO
(*Coffea arabica* L.) COMO BIOCONTROLADOR DE LA ROYA AMARILLA (*Hemileia
vastatrix* Berk. & Br.) Y PROMOTOR DE CRECIMIENTO EN SAN JUAN DEL ORO”

TESIS

PRESENTADA POR:

GIOVANA MAMANI HUAYHUA

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

INGENIERO AGRÓNOMO

FECHA DE SUSTENTACIÓN: 27 DE DICIEMBRE DEL 2017



APROBADA POR EL JURADO REVISOR CONFORMADO POR:

PRESIDENTE

:

.....

Dr. Juan Gregorio ZAPANA PARI

PRIMER MIEMBRO

:

.....

Dra. Betsabe LEON TTACCA

SEGUNDO MIEMBRO

:

.....

Mg. Ag. Marilú CHANINI QUISPE

DIRECTOR / ASESOR

:

.....

Dr. Luis Alfredo PALAO ITURREGUI

PUNO – PERÚ

2017

Área : Ciencias agrícolas

Tema : Manejo Integrado de Plagas y Enfermedades en cultivos andinos, tropicales, forestales y pasturas

DEDICATORIA

Con mucho amor y afecto a mis queridos padres: Arnaldo Mamani Añamuro y Lucía Huayhua Apaza, por su apoyo incondicional en todo momento de mi vida para lograr mis metas y objetivos, también porque día a día me apoyan para que siga mejorando y creciendo en la vida; así mismo con mucho cariño a mis queridos abuelos; Exaltación Añamuro, Roberto Apaza, Julia Apaza por su apoyo y sabios consejos.

Con mucho cariño y gratitud a mis queridos hermanos: Yaneth Mayory, Einner Gianmarco, Julio César, Eduardo Gustavo, Gian Carlos por acompañarme siempre, por el constante apoyo moral que me brindan y porque siempre estaremos para apoyarnos y cuidarnos.

Un agradecimiento especial a mis tíos (as): Carmelo, Isidro, Norma por el apoyo que me brindaron; así mismo a mis amigos(as) de ayer, hoy y siempre, sin nombrarlos por temor a olvidarme de alguno de ellos.

Giovana M. H.

AGRADECIMIENTOS

Expresar mi agradecimiento en primer lugar a Dios, luego a mi centro de formación profesional: Universidad Nacional del Altiplano – Puno y a mi querida Escuela Profesional de Ingeniería Agronómica por sus enseñanzas impartidas para mi formación profesional.

Al Dr. Luis Alfredo Palao Iturregui por la confianza para el desarrollo de este trabajo de investigación por el valioso apoyo brindado durante todo este proceso como asesor y como guía.

A la Dra. Betsabe Leon Ttacca por sus conocimientos, orientaciones, confianza, apoyo y por ser mí guía durante el periodo de tiempo que ha durado esta tesis.

Al Laboratorio de Fitopatología al laboratorista Félix por el conocimiento que me transmitieron y su apoyo incondicional.

A mis compañeros por su apoyo, cariño y amistad: Victor Hugo, Vilk, Hofner, Elizabeth, Marco Antonio, William Rivas.

A los miembros del Jurado Calificador de esta Tesis, por sus buenas observaciones y recomendaciones para la culminación del trabajo de investigación.

A mis padres Arnaldo y Lucia, por todos aquellos sacrificios que pusieron durante los años de mis estudios.

Finalmente, a todas aquellas personas que de una u otra forma hicieron posible la culminación del presente trabajo.

Giovana M. H.

ÍNDICE

RESUMEN	17
ABSTRACT	18
I. INTRODUCCIÓN	19
II. REVISIÓN DE LITERATURA.	21
2.1. CULTIVO DE CAFÉ (<i>Coffea arabica</i> L.).	21
2.1.1. Origen y distribución.	21
2.1.2. Ubicación taxonómica.....	21
2.1.3. Características morfológicas.....	22
2.1.4. Variedades de café (<i>Coffea arabica</i> L.).	23
2.1.5. Condiciones ecológicas.	24
2.1.6. Producción de plántones de café.....	24
2.2. ENFERMEDAD.....	25
2.2.1. Incidencia.....	26
2.2.2. Severidad.....	26
2.2.3. Área bajo la curva del progreso de la enfermedad (AUDPC).	26
2.3. ROYA AMARILLA.	26
2.3.1. Agente Causal.	26
2.3.2. Taxonomía de la roya amarilla del caféto.	27
2.3.3. Rango de hospedantes.....	27
2.3.4. Origen y distribución de la roya amarilla del caféto.....	27
2.3.6. Ciclo de la enfermedad.....	28
2.3.7. Epidemiología.	30
2.3.8 Diversidad genética y razas de roya.....	31
2.4. GENERALIDADES DE LOS HONGOS ENDOFITOS.....	32
2.4.1. Definición de los hongos endófitos.	32
2.4.2. Diversidad y distribución de los hongos endófitos tropicales.	32
2.4.3. Mecanismos de los hongos endófitos en la protección de la planta contra los patógenos.	33
2.4.4. Hongos endófitos y su interacción con patógenos de las plantas.....	34
III. MATERIALES Y MÉTODOS	35

3.1. MUESTREO, SELECCIÓN DE HOJA Y TALLOS DE PLANTAS DEL CAFETO.	35
3.2. AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE HONGOS ENDÓFITOS ANTAGÓNICOS.....	36
3.2.1. Preparación de medio de cultivos para hongos.	36
3.2.2. Metodología para aislar hongos endófitos a partir de hojas y tallos del café.....	36
3.2.3. Repique de los hongos endófitos.....	37
3.2.4. Identificación del hongo endófito.....	38
3.3. CARACTERIZACIÓN DE HONGOS ENDÓFITOS ANTAGÓNICOS.....	38
3.4. EFECTO DE LA APLICACIÓN DE HONGOS ENDÓFITOS ANTAGÓNICOS EN EL DESARROLLO DE PLANTONES DE CAFÉ (<i>Coffea arabica</i> L.) EN EL DISTRITO DE SAN JUAN DEL ORO.....	39
3.4.1. Producción de cepas de <i>Trichoderma</i> sp. endófito aisladas.....	39
3.4.2. Determinación de la producción de conidios.	40
3.4.3. Preparación del sustrato para el vivero.....	41
3.4.4. Repique de las plántulas de café (<i>Coffea arabica</i> L.).	41
3.4.5. Aplicación de hongos endófitos antagónicos.	42
3.5. CAPACIDAD DE BIOCONTROL DE LOS HONGOS ENDÓFITOS ANTAGÓNICOS HACIA LA ROYA DEL CAFÉ (<i>Hemileia vastatrix</i>) EN EL DISTRITO DE SAN JUAN DEL ORO.	42
3.5.1. Inoculación de la roya del café (<i>Hemileia vastatrix</i> Berk. & Br.) en plántulas de café.....	42
3.5.2. Aplicación del biocontrol con cepas de <i>Trichoderma</i> sp. endófito.	43
3.6. METODOLOGÍA DE EVALUACIÓN.	43
3.6.1. Altura de planta (cm).....	43
3.6.2. Diámetro de tallo (mm).	44
3.6.3. Longitud de raíz principal (cm).....	44
3.6.4. Número de hojas (unidad).	44
3.6.5. Incidencia de la roya amarilla (%).	44
3.6.6. Severidad de la roya amarilla (<i>Hemileia vastatrix</i>) (%).	44
3.6.7. Área bajo la curva del progreso de la enfermedad (AUDPC).	45
3.7. DISEÑO EXPERIMENTAL Y ANÁLISIS ESTADÍSTICO	46
3.8. CARACTERIZACIÓN DEL ÁREA DE INVESTIGACIÓN.	47
3.8.1. Ámbito de estudio.	47

3.8.2. Ubicación política.....	47
3.8.3. Ubicación geográfica.	47
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	48
4.1. AISLAMIENTO Y CARACTERIZACIÓN DE HONGOS ENDÓFITOS DE HOJAS Y TALLOS ANTAGÓNICOS DE FITOPATÓGENOS DEL CAFETO (<i>Coffea arabica</i> L.) EN EL DISTRITO DE SAN JUAN DEL ORO.....	48
4.1.1. Aislamiento de hongos endófitos de hojas y tallos.....	48
4.1.2. Descripción de géneros aislados de hojas y tallos del cafeto procedente del distrito de San Juan del Oro.....	50
4.1.3. Caracterización morfológica de los hongos endófitos <i>Trichoderma</i> sp.	53
4.2. EFECTO DE HONGOS ENDÓFITOS ANTAGÓNICOS EN EL DESARROLLO DE PLANTONES DE CAFÉ (<i>Coffea arabica</i> L.) EN EL DISTRITO DE SAN JUAN DEL ORO.	59
4.2.1. Altura de planta de cafeto.	59
4.2.2. Diámetro de tallo de plantones de cafeto.....	61
4.2.3. Longitud de la raíz principal de plantones de cafeto.....	63
4.2.4. Número de hojas (unidad).	65
4.3. DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD BIOCONTROLADORA DE LOS HONGOS ENDÓFITOS ANTAGÓNICOS HACIA LA ROYA DEL CAFÉ (<i>Hemileia vastatrix</i> Berk. & Br.) EN EL DISTRITO DE SAN JUAN DEL ORO.....	68
4.3.1. Incidencia de la roya amarilla.	68
4.3.2. Severidad de la roya amarilla del cafeto.	71
4.3.3. Área bajo la curva del progreso de la enfermedad (AUDPC).	74
CONCLUSIONES	79
RECOMENDACIONES	80
REFERENCIAS.....	81
ANEXOS	88

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. A. Área foliar afectada, B. Pústulas y signos visibles de la enfermedad y C. Uredosporas de la roya amarilla del cafeto.....	28
Figura 2. Ciclo de vida de <i>Hemileia vastatrix</i> Berk. & Br.	29
Figura 3. Ciclo de vida del hongo <i>Hemileia vastatrix</i> . a. Diseminación; b. Germinación; c. Colonización, d. Reproducción.....	30
Figura 4. Diagrama de muestreo de hojas y tallos del cafeto en el distrito de San Juan del Oro.....	35
Figura 5. Pasos para el aislamiento de hongos endófitos de tallo.....	37
Figura 6. Pasos para el aislamiento de hongos endófitos de hojas.....	37
Figura 7. Siembra de tallos ya desinfestados en medio PSA en cámara de flujo laminar.	37
Figura 8. Caracterización de hongos endófitos. A. Siembra de hongos en medio PSA y EMA, B y C. Medición de crecimiento de <i>Trichoderma</i> sp. D. Medición de conidias en el laboratorio de la UNA-Puno.....	38
Figura 9. Diagrama de proceso de producción de <i>Trichoderma</i> sp.....	39
Figura 10. Producción de cepas de <i>Trichoderma</i> sp. endófito en sustrato de cebada. A. Llenado de bolsas con sustrato de cebada. B. Inoculación con las cepas de <i>Trichoderma</i> sp. endófito sobre el sustrato de cebada y C. Incubación	40
Figura 11. Plántulas de café en estado fosforito listas para ser repicadas en las bolsas que contienen el sustrato preparado.....	40
Figura 12. A. Embolsados del sustrato para el repique de plántulas de cafeto y B. Aplicación de <i>Trichoderma</i> sp. a las bolsas contenido el sustrato para que estén a capacidad de campo con los distintos tratamientos a nivel de vivero.	41
Figura 13. A. Repique de plántulas de cafeto y B. Aplicación de cepas de <i>Trichoderma</i> sp. endófito a nivel de vivero.	41
Figura 14. A. Selección de hojas con síntomas visibles de la enfermedad con posterior corte de 1cm ² y B. Diluciones con twin para el conteo de las uredosporas.	42
Figura 15. Aplicación de uredosporas de la roya amarilla (<i>Hemileia vastatrix</i>) en plántulas de cafeto a nivel de vivero.	43

Figura 16. Evaluación de crecimiento de plantas de café. A. Altura de planta y B. Diámetro de tallo a nivel de vivero en plántones de cafeto en el distrito de San Juan del Oro.	43
Figura 17. Grado de Calificación de la Roya Amarilla del cafeto.	45
Figura 18. Características culturales y microscópicas de <i>Botryosphaeria</i> sp. A. Anverso, B. Reverso de la colonia en medio PSA que muestra una coloración de color negro y C. Picnidios.	50
Figura 19. Características culturales y microscópicas de <i>Colletotrychum</i> sp. A. Anverso y B. Conidia y Esporodocios.	51
Figura 20. Características culturales y microscópicas de <i>Xylaria</i> sp. A. Reverso, B. Anverso de la colonia en medio PSA y C. Estromas.	51
Figura 21. Características culturales y microscópicas de <i>Pestalotiopsis</i> sp. A. Colonia en medio PSA y B. Conidia.	52
Figura 22. Características culturales y microscópicas de <i>Fusarium</i> sp. A. Anverso, B. Reverso de la colonia en medio PSA y C. Conidióforo y conidia.	52
Figura 23. Características culturales y microscópicas de <i>Trichoderma</i> sp. A, B, C, D. Anverso de la colonia en medio PSA y F. Conidióforo y conidios.	53
Figura 24. Características culturales y microscópicas del morfotipo 1 (T1). A. Anverso y B. Reverso de la colonia en medio EMA, C. Anverso y D. Reverso en medio PSA, E. Conidia.	55
Figura 25. Características culturales y microscópicas del morfotipo 2 (T2). A. Anverso y B. Reverso de la colonia en medio EMA, C. Anverso y D. Reverso en medio PSA, E. Conidia.	56
Figura 26. Características culturales y microscópicas del morfotipo 3 (T3). A. Anverso y B. Reverso de la colonia en medio EMA, C. Anverso y D. Reverso en medio PSA., E. Conidia.	56
Figura 27. Características culturales y microscópicas del morfotipo 4 (T4). A. Anverso y B. reverso de la colonia en medio EMA, C. Anverso y D. Reverso de la colonia en medio PSA, E. Conidia.	57
Figura 28. Características culturales y microscópicas del morfotipo 5 (T5). A. Anverso y B. Reverso de la colonia en medio EMA, C. Anverso y D. Reverso de la colonia en medio PSA., E. Conidia.	58
Figura 29. Altura de planta en plántones de cafeto con aplicación de cepas <i>Trichoderma</i> sp. endófito en tres aplicaciones (3 meses).	61

Figura 30 . Comparación de altura de plántulas de café después de la última aplicación de las cinco cepas de <i>Trichoderma</i> sp. a nivel de vivero en distrito de San Juan del Oro.	61
Figura 31. Diámetro de tallo de plántulas de café después de la aplicación de cepas de <i>Trichoderma</i> sp. endófito.	63
Figura 32. Longitud de la raíz principal de plántulas de café después de la aplicación de cepas de <i>Trichoderma</i> sp. endófito al tercer mes.	64
Figura 33. Comparación de longitud de raíz de los distintos tratamientos de cinco cepas de <i>Trichoderma</i> sp. endófito en plántulas de café a nivel de vivero al tercer mes.	65
Figura 34. Número de hojas de plántulas de café con aplicación de cinco cepas de <i>Trichoderma</i> sp. endófito al tercer mes.	66
Figura 35. Porcentaje de incidencia de la roya amarilla (<i>Hemileia vastatrix</i>) en plántulas de café en comparación al testigo.	70
Figura 36. Porcentaje de severidad de la roya amarilla (<i>Hemileia vastatrix</i>) del café en plántulas de café en comparación al testigo.	73
Figura 37. Muestra del porcentaje de severidad de la roya amarilla (<i>Hemileia vastatrix</i>) en plántulas de café a nivel de vivero.	74
Figura 38. Representación gráfica de la Área Bajo la Curva del Progreso de la Enfermedad (AUDPC) de la severidad en plántulas de café a nivel de vivero, como efecto de las cinco cepas de <i>Trichoderma</i> sp. endófito para el control de <i>Hemileia vastatrix</i> Berk. & Br. del café.	76
Figura 39. Recolección de muestras de hojas y tallos de café (<i>Coffea arabica</i> L.) en el centro poblado de Yanamayo del distrito de San Juan del Oro.	88
Figura 40. Finca San Rosario ubicado en el centro poblado de Yanamayo donde se colectó muestra de hojas y tallos del café.	88
Figura 41. Recolección de hojas y tallos y colocados posteriormente en un sobre en el Sector Nogalani del distrito de San Juan del Oro.	89
Figura 42. Finca de café variedad catimor ubicado en el sector de Nogalani... ..	89
Figura 43. Cafés paloteados y afectados con distintas enfermedades en el distrito de San Juan del Oro.	90
Figura 44. Procesamiento de muestras colectadas en el laboratorio en la cabina de flujo laminar en la Universidad Nacional del Altiplano.	90

Figura 45. Cepas de hongos endófitos aisladas de los tallos del cafeto donde se observa la gran variedad de hongos que se logró aislar procedentes del distrito de San Juan del Oro. 91

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Escala de severidad para la roya amarilla.	45
Tabla 2. Número total de cepas de hongos endófitos aisladas de hojas y tallos del cafeto procedentes del distrito de San Juan del Oro.	48
Tabla 3. Géneros de hongos endófitos aislados de la planta del cafeto de hojas y tallos de los distintos sectores procedentes del distrito de San Juan del Oro.	49
Tabla 4. Cepas de hongos endófitos por cada género aislados de la planta del cafeto de hojas y tallos procedentes del distrito de San Juan del Oro.	50
Tabla 5. Caracterización de cepas de <i>Trichoderma</i> sp. endófito aislado de hojas y tallos de la planta del cafeto procedentes del distrito de San Juan del Oro.	54
Tabla 6. Análisis de varianza para altura de planta de cafeto en 3 evaluaciones (meses) con aplicación de cepas de <i>Trichoderma</i> sp. endófitos.	60
Tabla 7. Prueba de comparación de medias de Duncan para altura de plántones de cafeto (cm) para las tres evaluaciones con aplicación de cepas de <i>Trichoderma</i> sp. endófito.	60
Tabla 8. Análisis de varianza para diámetro de tallo de plántones de cafeto en 3 evaluaciones (meses) con aplicación de cepas de <i>Trichoderma</i> sp. endófito.	62
Tabla 9. Prueba de comparación de medias de Duncan para diámetro de tallo en mm de plántones de cafeto para las tres evaluaciones con aplicación de cepas de <i>Trichoderma</i> sp. endófito.	62
Tabla 10. Análisis de varianza de longitud de raíz principal de plántones de café con aplicación de cepas de <i>Trichoderma</i> sp. endófito al tercer mes.	63
Tabla 11. Prueba de comparación de medias de Duncan para longitud de raíz principal (cm) de plántones de cafeto al tercer mes con aplicación de cepas de <i>Trichoderma</i> sp. endófito.	64
Tabla 12. Análisis de varianza para número de hojas de los plántones de café con aplicación de cepas de <i>Trichoderma</i> sp. endófito al tercer mes.	65
Tabla 13. Prueba de comparación de medias de Duncan para número de hojas (unidad) al tercer mes con aplicación de cepas de <i>Trichoderma</i> sp. endófito.	66
Tabla 14. Análisis de varianza para incidencia de la roya amarilla del cafeto con aplicación de cepas de <i>Trichoderma</i> sp. endófito.	68

Tabla 15. Prueba de comparación de medias de Duncan para incidencia de la roya amarilla en plántones de café para las cinco evaluaciones con aplicación de cepas de <i>Trichoderma</i> sp. endófito.....	69
Tabla 16. Análisis de severidad de la roya amarilla en plántones de café con aplicación de cepas de <i>Trichoderma</i> sp. endófito para las cinco evaluaciones.....	71
Tabla 17. Prueba de comparación de medias de Duncan para porcentaje de severidad de la roya amarilla (<i>Hemileia vastatrix</i>) en plántones de café para las cinco evaluaciones con aplicación de cepas de <i>Trichoderma</i> sp. endófito.	72
Tabla 18. Análisis de varianza para la variable área bajo la curva del progreso de la enfermedad de la severidad de la roya amarilla (<i>Hemileia vastatrix</i>) del café a nivel de vivero.	75
Tabla 19. Área bajo la curva del progreso de la enfermedad por tratamiento de las cinco evaluaciones con datos de severidad de la roya amarilla del café.	75
Tabla 20. Evaluación de tasa de crecimiento en cm/día de hongos endófitos <i>Trichoderma</i> sp. en medio PSA y EMA.	93
Tabla 21. Datos registrados para altura de planta (cm) y diámetro de tallo (mm) de plántones de café a nivel de vivero luego de la aplicación de cepas de <i>Trichoderma</i> sp. endófito para cada mes en el distrito de San Juan del Oro para los tres meses de evaluación.....	93
Tabla 22. Datos registrados para número de hojas de plántones de café (unidad) con su transformación con log y longitud de la raíz principal en plántones de café luego de ser aplicados con cepas de <i>Trichoderma</i> sp. endófito a nivel de vivero en el distrito de San Juan del Oro para el tercer mes de evaluación..	98
Tabla 23. Datos registrados en incidencia y severidad de la roya amarilla en plántones de café y su transformación con logaritmo a nivel de vivero en distrito de San Juan del Oro al ser aplicados con cepas de <i>Trichoderma</i> sp. endófito al comienzo de la evaluación.	99
Tabla 24. Análisis de varianza para altura de planta de plántones de café con aplicación de cepas de <i>Trichoderma</i> sp. endófito para la primera evaluación (mes 1).	103
Tabla 25. Análisis de varianza para altura de planta de plántones de café con aplicación de cepas de <i>Trichoderma</i> sp. endófito para la segunda evaluación (mes 2).	103

Tabla 26. Análisis de varianza para altura de planta de cafeto con aplicación de cepas de <i>Trichoderma</i> sp. endófito para la tercera evaluación (mes 3)	103
Tabla 27. Análisis de varianza para diámetro de tallo de los plantones de café con aplicación de cepas de <i>Trichoderma</i> sp. endófito para la primera evaluación (mes 1).....	104
Tabla 28. Análisis de varianza de diámetro de tallo de los plantones de café con aplicación de cepas de <i>Trichoderma</i> sp. endófito para la segunda evaluación (mes 2).....	104
Tabla 29. Análisis de varianza de diámetro de tallo de los plantones de café con aplicación de cepas de <i>Trichoderma</i> sp. endófito para la tercera evaluación (mes 3).....	104
Tabla 30. Análisis de varianza para incidencia de la roya amarilla en plantones de cafeto con aplicación de cepas de <i>Trichoderma</i> sp. endófito para la primera evaluación.....	105
Tabla 31. Análisis de varianza para incidencia de la roya amarilla en plantones de cafeto con aplicación de cepas de <i>Trichoderma</i> sp. endófito para la segunda evaluación.....	105
Tabla 32. Análisis de varianza para incidencia de la roya amarilla en plantones de cafeto con aplicación de cepas de <i>Trichoderma</i> sp. endófito para la tercera evaluación.....	105
Tabla 33. Análisis de varianza para incidencia de la roya amarilla en plantones de cafeto con aplicación de cepas de <i>Trichoderma</i> sp. endófito para la cuarta evaluación.....	106
Tabla 34. Análisis de varianza para incidencia de la roya amarilla en plantones de cafeto con aplicación de cepas de <i>Trichoderma</i> sp. endófito para la quinta evaluación.....	106
Tabla 35. Análisis de varianza para severidad de la roya amarilla en plantones de cafeto con aplicación de cepas de <i>Trichoderma</i> sp. endófito para la primera evaluación.....	106
Tabla 36. Análisis de varianza para severidad de la roya amarilla en plantones de cafeto con aplicación de cepas de <i>Trichoderma</i> sp. endófito para la segunda evaluación.....	107

Tabla 37. Análisis de varianza de severidad de la roya amarilla en plantones de café con aplicación de cepas de <i>Trichoderma</i> sp. endófito para la tercera evaluación.	107
Tabla 38. Análisis de varianza de severidad de la roya amarilla en plantones de café con aplicación de cepas de <i>Trichoderma</i> sp. endófito para la cuarta evaluación.	107
Tabla 39. Análisis de varianza de severidad de la roya amarilla en plantones de café con aplicación de cepas de <i>Trichoderma</i> sp. endófito para la quinta evaluación.	108

ÍNDICE DE ACRÓNIMOS

%	=	Porcentaje.
*	=	Significativo.
**	=	Altamente significativo.
°C	=	Grados centígrados.
µm	=	Micras.
ANVA	=	Análisis de varianza.
AUDPC	=	Área bajo la curva del progreso de la enfermedad.
C.V.	=	Coefficiente de variabilidad.
cm	=	Centímetro.
cm ²	=	Centímetro cuadrado.
EMA	=	Extracto de malta agar.
Eval.	=	Evaluación.
Fcal	=	F-calculada.
Ftab	=	F-tabular.
g	=	Gramos.
l	=	Litros.
Min	=	Minuto.
ml	=	Mililitro.
mm	=	Milímetro.
msnm	=	Metros sobre el nivel del mar.
N.S.	=	No significativo.
N°	=	Número.
NS	=	No significativo
PCM	=	Prueba de comparación de medias.
PSA	=	Papa sacarosa agar.
Rep.	=	Repetición.
Sig.	=	Significancia.
Trat.	=	Tratamiento.

RESUMEN

El presente trabajo de investigación se realizó en el distrito de San Juan del Oro, provincia de Sandia departamento de Puno, con el objetivo de aislar y caracterizar hongos endófitos antagónicos con capacidad de biocontrol de la roya amarilla (*Hemileia vastatrix* Berk. & Br.) y promotor de crecimiento de plántulas de café (*Coffea arabica* L.). Se determinó la existencia de la micobiota endofítica a partir de hojas y tallos de plantas de café de diez sectores que se aislaron en medio PSA (Papa sacarosa agar). Para la caracterización se evaluó las características microscópicas (tamaño de conidias) y culturales (elevación, forma, borde, color y tasa de crecimiento) de las cinco cepas de *Trichoderma* sp. Asimismo, con estas cepas se realizaron tres aplicaciones vía drench y una vía foliar a una concentración de 1×10^7 ufc. ml⁻¹ en plántulas de café (T1, T2, T3, T4, T5), se evaluó altura de planta, diámetro de tallo, longitud de raíz principal, número de hojas, incidencia, severidad y AUDPC (Área bajo la curva del progreso de la enfermedad) a nivel de vivero. Se aisló un total de 425 cepas, de las cuales 212 son de hoja y 213 de tallos. Los hongos endófitos más aislados pertenecen a los siguientes géneros: *Botryosphaeria*, *Colletotrychum*, *Pestalotiopsis*, *Xylaria*, *Fusarium* y *Trichoderma*. La caracterización morfológica de las cinco cepas del género *Trichoderma* sp. endófito mostraron diferencias microscópicas y culturales entre ellas. Todos los tratamientos que recibieron aplicaciones de *Trichoderma* sp. mostraron un efecto positivo en el crecimiento y control de la enfermedad con respecto al testigo. Siendo el tratamiento T1 con mejor respuesta a las variables en altura de planta con 12.70 cm, diámetro de tallo con 2.5 mm, número de hojas con 7.6 unidades, longitud de raíz principal con 11.38 cm; asimismo el T1 mostró un menor porcentaje de incidencia con 35.8%, severidad 8.95 % y su AUDPC 56.625 unidades respecto al testigo. Por lo que, se recomienda como una alternativa complementaria para el manejo integrado de enfermedades del café.

Palabras Clave: Biocontrolador, *Coffea arábica*, *Hemileia vastatrix*, Hongo endófito.

ABSTRACT

The present research work was carried out in the district of San Juan del Oro, province of Sandia department of Puno, with the aim of isolating and characterizing antagonistic endophytic fungi with biocontrol capacity of yellow rust (*Hemileia vastatrix* Berk. & Br.) and promoter of growth of coffee seedlings (*Coffea arabica* L.). The existence of the endophytic mycobiota was determined from leaves and stems of coffee plants of ten sectors that were isolated in PSA medium (Papa sucrose agar). For the characterization, the microscopic (size of conidia) and cultural characteristics (elevation, shape, border, color and growth rate) of the five strains of *Trichoderma* sp. Also, with these strains three applications were made via drench and one foliar route at a concentration of 1×10^7 ufc. ml⁻¹ in coffee seedlings (T1, T2, T3, T4, T5), evaluated plant height, stem diameter, main root length, number of leaves, incidence, severity and AUDPC (Area under the progress curve of the disease) at the nursery level. A total of 425 strains were isolated, of which 212 are leaf and 213 are stems. The most isolated endophytic fungi belong to the following genera: *Botryosphaeria*, *Colletotrychum*, *Pestalotiopsis*, *Xylaria*, *Fusarium* and *Trichoderma*. The morphological characterization of the five strains of the genus *Trichoderma* sp. endophytes showed microscopic and cultural differences between them. All treatments that received *Trichoderma* sp. applications showed a positive effect on the growth and control of the disease with respect to the control. Being the T1 treatment with the best response to the variables in height of plant with 12.70 cm, diameter of stem with 2.5 mm, number of leaves with 7.6 units, length of main root with 11.38 cm; likewise, T1 showed a lower percentage of incidence with 35.8%, severity 8.95% and its AUDPC 56.625 units with respect to the control. Therefore, it is recommended as a complementary alternative for the integrated management of coffee tree diseases.

Keywords: Biocontroller, *Coffea arabica*, *Hemileia vastatrix*, Endophyte fungus.

I. INTRODUCCIÓN

En la actualidad el cultivo de café (*Coffea arabica* L.), es uno de los principales cultivos y fuentes de ingresos para los productores de San Juan del Oro, que cuenta con condiciones que favorecen a la producción orgánica cafetalera, siendo el grano de café un producto de agro exportación y generador de divisas del Perú (Fundes,2012); sin embargo, el rendimiento es bajo, debido al manejo deficiente de problemas fitopatológicos en especial de la roya del café (*Hemileia vastatrix* Berk. & Br.) que es una de las enfermedades principales e importantes de este cultivo, lo cual ocasiona la caída prematura de sus hojas infectadas y por ende disminuye la producción significativamente e influye en la calidad del grano de café, afectando a la economía de las familias productoras de este cultivo

Sin embargo, hasta la fecha la protección de cultivos se ha enfocado en productos de síntesis química; aunque se hacen grandes esfuerzos en la búsqueda de alternativas menos agresivas con el ambiente, las soluciones hasta ahora planteadas en muchos casos resultan ser controversiales. Sin embargo, puede que la solución se haya estado gestando por siglos de forma natural a partir de las interacciones entre organismos, tal es el caso de los hongos endófitos (Abello y Kelemu,2006).

Los hongos endófitos son organismos inherentes a las plantas que establecen una asociación específica con su hospedero para mutuo beneficio. La planta provee al hongo alimento, hospedaje y protección. Esta simbiosis otorga mayor habilidad competitiva a las plantas y permite una plena expresión de su potencial genético (Abello y Kelemu,2006). Asimismo, estos hongos endófitos antagónicos influyen en el crecimiento de la planta inducido por estos, el cual evitará estrés biótico y abiótico, reflejado en la planta vigor y considerado como una protección potencial del ataque de los patógenos (Kuldau y Bacon ,2008).

En ese sentido la utilización de microorganismos endófitos nativos aislados de la misma planta con capacidad antagónica, cuyas propiedades poseen un efecto protector hacia las plantas de factores bióticos y/o abióticos. Cuyos mecanismos potenciales de hongos endófitos brindan protección a la planta contra los patógenos

que se dan por efectos directos (interacción entre endófitos y patógenos) e indirecto (mejora de las defensas de la planta) y los efectos ecológicos (hiperparasitismo).

Por lo que los resultados logrados pueden ser de gran utilidad para poder implementar otra alternativa de control, que disminuya el problema de la roya amarilla y así mismo en forma indirecta promueva el crecimiento de plantones de café.

Debido a su importancia que poseen estos hongos endófitos antagónicos se plantea los siguientes objetivos:

Objetivo general:

- Aislar y caracterizar hongos endófitos antagónicos con capacidad de biocontrol de la roya amarilla (*Hemileia vastatrix* Berk. & Br.) y promotor de crecimiento en plantones de café (*Coffea arabica* L.) en el distrito de San Juan del Oro

Objetivos específicos:

- Aislar y caracterizar hongos endófitos de hojas y tallos antagónicos de fitopatógenos del cafeto (*Coffea arabica* L.) en el distrito de San Juan del Oro.
- Determinar el efecto de la aplicación de hongos endófitos antagónicos en el desarrollo de plantones de café (*Coffea arabica* L.) en el distrito de San Juan del Oro.
- Determinar la capacidad biocontroladora de los hongos endófitos antagónicos hacia la roya amarilla (*Hemileia vastatrix* Berk. & Br.) en el distrito de San Juan del Oro.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. CULTIVO DE CAFÉ (*Coffea arabica* L.)

2.1.1. Origen y distribución

El café, cuyo origen se remonta a la antigua Etiopia, probablemente en la provincia de Kaffa, es una de las bebidas más populares en el mundo, por ejemplo, países como Estados Unidos, Italia, Alemania y los países escandinavos, se caracterizan por tener una gran “cultura cafetalera” (Fundes,2012).

Los estudios biogeográficos y genéticos han permitido agrupar las diferentes especies de *Coffea* en cuatro grandes conglomerados geográficos. Los dos primeros grupos, África del Oeste-Centro y de África Central, están localizados en la zona de bosques intertropicales africanos. Hacen parte de estos grupos las especies comerciales más importantes: *C. arabica* y *C. canephora*, lo mismo que *C. liberica* y *C. eugenioides*. En el grupo de África del Este se localizan las especies: *C. salvatrix*, *C. racemosa* y *C. costatifructa*. El último grupo es el originario de la región de Madagascar, e incluye especies como *C. bertrandi* y *C. perrieri*, entre otras (Charrier y Berthaud 1985).

2.1.2. Ubicación taxonómica

Según Fundes, (2012), la ubicación taxonómica del café es la siguiente:

Reino	:	Plantae.
Tipo	:	Espermatofitas.
Sub-tipo	:	Angiospermas.
Clase	:	Dicotiledóneas.
Sub Clase	:	Gamopetalas inferiorvariadas.
Orden	:	Rubiales.
Familia	:	Rubiáceas.
Género	:	<i>Coffea</i> .
Sub- género	:	<i>Eucoffea</i> .
Especie	:	<i>arabica, canephora, liberica.</i>

2.1.3. Características morfológicas

2.1.3.1. Raíz

García (2002), menciona que tiene una raíz principal pivotante que penetra verticalmente en el suelo hasta aproximadamente 0.50m, de allí se generan otras raíces secundarias verticales que penetran hasta 1.20m, de estas últimas a su vez se originan otras raíces que se extienden horizontalmente y sirven de soporte a infinidad de raicillas o pelos absorbentes que toman el agua del suelo con los nutrientes minerales.

2.1.3.2. Tallo

El árbol de café está compuesto generalmente de un solo tallo o eje central, nudos y entrenudos.

En los primeros 3 a 4 nudos de una planta joven sólo brotan hojas, de ahí en adelante, ésta comienza a emitir ramas laterales originadas a partir de yemas que se forman en las axilas superiores de las hojas. En cada axila se forman dos o más yemas. La yema inferior da origen a nuevos brotes ortotrópicos y usualmente no se desarrolla a menos que se pade el tallo principal (Arcila *et.al.*, 2001)

2.1.3.3. Hoja

En *C. arabica* las hojas son opuestas, elípticas, de color bronce o verde claro cuando son jóvenes y se tornan verde oscuro a medida que se desarrollan. El color de las hojas en los primeros estados de desarrollo es una característica que permite diferenciar entre variedades de café. Así mismo, las hojas son glabras (Sin pelos) y cubiertas por una capa cerosa en el haz. El sistema de nervaduras es reticulado, con una nervadura central y de 9 a 12 nervaduras secundarias en ambos lados, recurvadas y sobresalientes en el envés. Los bordes son enteros y levemente ondulados (FNC-Cenicafé, 2013).

2.1.3.4. Flor

Las flores del cafeto se forman predominantemente a partir de yemas seriadas, ubicadas en las axilas foliares, que se encuentran en los nudos de las ramas plagiotrópicas y con menor frecuencia en los nudos de los brotes ortotrópicos (Camayo y Arcila, 1996).

2.1.3.5. Fruto

El fruto es una drupa globular u ovoide de peciolo corto. Tiene una longitud y un diámetro de 10 a 15 mm y de 11,5 a 14,5 mm, respectivamente, y se le denomina cereza (FNC-Cenicafé, 2013).

2.1.3.6. Semilla

La semilla de café es una nuez, oblonga, plano convexo, de tamaño variable (10 - 18 mm de largo y 6,5 – 9,5 mm de ancho) (Arcila *et.al.*, 2007).

La flor de cafeto está compuesta por una corola con cinco lóbulos, un cáliz, cinco estambres y el pistilo (Ovario, estilo y estigma). El ovario está en la base de la corola (Ínfero) y contiene dos óvulos, que una vez fertilizados, normalmente van a producir dos semillas de café. La flor se une a la inflorescencia mediante el pedicelo. Los estambres se insertan entre los lóbulos a través de filamentos cortos. Cada estambre posee una antera que contiene cuatro sacos polínicos (Arcila, 2004).

2.1.4. Variedades de café (*Coffea arabica* L.)

En el mundo existen dos especies comerciales de café: Arábica y Canephora. La primera es la más apreciada y representa las tres cuartas partes de la producción mundial de café. La variedad Arábica crece en altitudes superiores a los 900 metros: cuanto mayor es la altitud, mejor serán las cualidades organolépticas del grano de café.

Variedades con mejor adaptación, comportamiento, rendimiento y calidad de taza: Typica, Bourbon, Mundo novó, Caturra, Catuai, Pache (Marín, 2012).

a) Variedad Caturra

Variedad encontrada en Minas Gerais, Brasil, posiblemente originada como una mutación de un gene dominante del café Bourbon. El Caturra se caracteriza por ser de porte bajo, tiene entrenudos cortos, tronco grueso y poco ramificado, y ramas laterales abundantes, cortas, con ramificación secundaria, lo que da a la planta un aspecto vigoroso y compacto. Con respecto al Bourbon, en la variedad Caturra las hojas son más grandes, anchas y oscuras, los frutos son también de mayor tamaño, el sistema radical está muy bien desarrollado y es de mayor extensión y densidad.

La adaptabilidad de esta variedad es muy amplia, particularmente en cuanto a altitud y el potencial productivo es muy sobresaliente, ya que a pesar de su tamaño pequeño la cualidad de presentar entrenudos muy cortos y ramificación secundaria abundante, posibilita su alta productividad. Se puede sembrar a una densidad de 5000 plantas por hectárea, aunque en condiciones muy favorables para el cultivo, la densidad puede ser un poco mayor (CICAFE, 2011).

2.1.5. Condiciones ecológicas

2.1.5.1. Clima

El café se desarrolla mejor en un clima cálido y semicálido, este componente presenta altas variaciones entre el día y la noche. La temperatura óptima para el cultivo del cafeto se encuentra entre 19°C y 21°C en climas fríos, donde la temperatura media es menor de 19°C las variedades de café se desarrollan menos. Requiere una precipitación comprendida entre los 1800 y 2800 mm anuales con una buena distribución en los diferentes meses del año; como promedio 120 mm al mes el café se cultiva entre los 600 a 1400msnm (Sanchez,2005).

2.1.5.2. Suelo

Castañeda (2000) refiere que el café se desarrolla mejor en suelos sueltos y profundos mayores a 1.20m contextura media a arcillosa, es favorable los suelos francos variando del 20 al 35% de arcilla y requiere un pH de 4.5 a 5.5.

2.1.6. Producción de plantones de café

2.1.6.1. Germinación de la semilla

La germinación ocurre cuando las semillas se transforman en plántulas, la primera etapa se conoce como “Palito de fosforo” y la segunda como “mariposa”, que es cuando aparecen las hojas cotiledonales, periodo que en promedio dura de 45 a 60 días (Fundes,2012).

Según el Manual Técnico del Cultivo del Café, (2015) toma en cuenta las siguientes consideraciones a tener en cuenta para instalar el germinador:

- Instalar el germinador cerca de una fuente de agua.
- Ubicar en una parte plana con buen drenaje.
- Protegerlo del daño de animales.

- Construir 6 a 7 meses antes de la época de trasplante a campo definitivo.

2.1.6.2. Vivero de café

Es el lugar destinado a la producción de plántulas de café, que se puede realizar en bolsas de polietileno o en camas a raíz desnuda (Fundes, 2012).

2.1.6.2.1. Preparación de sustrato

Recolección de sustrato, de preferencia de bosque primario o secundario.

- Cernido de sustrato, con una malla con abertura de 1 cm.

2.1.6.2.2. Embolsado

Consiste en llenar las bolsas con el sustrato, presionando con los dedos para un llenado adecuado de la base de la bolsa y las esquinas. Con la ayuda de una estaca, presionar uniformemente para evitar la deformación y espacios vacíos en la bolsa. Se recomienda utilizar bolsas de 5"x7" con agujeros de 1mm (para drenaje) (Marín, 2012).

2.1.6.2.3. Repique del café

Según Fundes, (2012):

- Las plántulas deben estar en estado fosforito o máximo, en estado mariposa
- Saca las plántulas (fosforitos) en orden, empezando por un extremo del germinador.
- Elimina las plántulas de raíz torcida, débiles, amarillentas y las que presentan ataque de nematodos y/o chupadera.
- Entre 6 a 8 horas antes del repique, riega las bolsas del vivero.
- Con una estaquilla haz un orificio en el centro de cada bolsa de acuerdo al tamaño de la raíz.
- Corta la punta de la raíz con la finalidad de que no se doble.
- Coloca las plántulas (fosforitos) en el sustrato con mucho cuidado.
- Presiona el sustrato alrededor de la plántula.

2.2. ENFERMEDAD

Según Zapana, (2012) considera que la enfermedad es la alteración fisiológica desfavorable que se produce en el normal funcionamiento de un organismo. La enfermedad biótica de una planta puede ser considerada como una interacción

entre el hospedante y el patógeno (bacteria, hongo, virus, fitoplasma, nematodo) lo que afecta en forma adversa la productividad y utilización del cultivo.

2.2.1. Incidencia

Es el porcentaje de plantas o partes de ellas con enfermedad en una muestra o población. La variable incidencia es la de mayor facilidad y precisión de obtención (SENASA, 2003).

2.2.2. Severidad

Se refiere al nivel promedio de enfermedad de una unidad. Se lo expresa como el área o volumen de tejido vegetal que está enfermo, usualmente en referencia al área o volumen total (en %) (SENASA, 2003).

2.2.3. Área bajo la curva del progreso de la enfermedad (AUDPC)

Se usa para describir el desarrollo de la enfermedad a lo largo de la época del cultivo e identificar diferencias entre tratamientos se calcula el valor del área bajo la curva de progreso de la enfermedad (AUDPC), en base a mediciones de severidad. La fórmula general para el cálculo del AUDPC es:

$$AUDPC = \sum_i^{n-1} \left(\frac{Y_i + Y_{i+1}}{2} \right) \times t_{i+1} - t_i$$

Donde n es el número de evaluaciones, y es la severidad y t es el número de días después de la siembra en que se hace la evaluación.

2.3. ROYA AMARILLA

2.3.1. Agente Causal

El agente causal de la roya del café es el hongo *Hemileia vastatrix* (Zapana, 2012).

Las esporas son de tamaño microscópico (30µm de largo x 20µm de ancho) de forma reniforme, lisas en la cara interna y rugosas en la externa, denominadas uredosporas, y son producidas en grandes cantidades, y corresponden al polvillo amarillo o naranja que se visualiza en el envés de las hojas de café y es característico de esta enfermedad. Las teliósporas, cuya ocurrencia es muy baja, son de forma redondeada de 20-25µm (Castro *et.al.*, 2009 mencionado por Mora, 2016).

2.3.2. Taxonomía de la roya amarilla del cafeto

Según Subero (2013).

División	:	Eumycota
Subdivisión	:	Basidiomycotina
Clase	:	Teliomycetes
Orden	:	Uredinales
Familia	:	Pucciniaceae
Género	:	Hemileia
Especie	:	<i>H. vastatrix</i> Berk. & Br.

2.3.3. Rango de hospedantes

La roya anaranjada es un parásito obligado que afecta las hojas (vivas) de las especies del género *Coffea*. De las especies cultivadas, *C. arabica* es el más atacado (Avelino y Rivas, 2014).

2.3.4. Origen y distribución de la roya amarilla del cafeto

La roya anaranjada del cafeto fue reportada formalmente por primera vez a principios de 1869 en una plantación de la isla asiática de Ceilán, hoy Sri Lanka. En ese mismo año, el micólogo británico Berkeley describió y nombró el hongo responsable de la enfermedad: *Hemileia vastatrix*. La repentina aparición de la enfermedad y su rápida expansión en una región tan alejada de los centros de origen y de diversificación del cafeto, localizados en África central y África oriental (Leppik, 1970 mencionado por Avelino *et.al.*, 2014).

La roya fue introducida al Perú en el año 1979. Todos los países centroamericanos fueron fuertemente afectados por la epidemia de roya anaranjada del 2012, así como países del Caribe y México. Además, en la cosecha del 2013, el Perú y Ecuador también fueron impactados severamente por la enfermedad. Si se agregan las epidemias previas de Colombia del 2008 al 2011 se puede decir que la roya anaranjada tuvo un impacto casi continental en pocos años, a la diferencia de las

epidemias anteriores que fueron aparentemente epidemias a nivel nacional (Cristancho *et.al.*,2012).

2.3.5.1. Síntoma

Los síntomas aparecen en forma de mancha polvorientas de color amarillo naranja en el envés de las hojas. Al inicio son pequeñas, redondeadas de casi 5mm, pero pronto coalescen y forman grandes manchas. La parte central de las manchas se seca, luego empardece y la hoja cae prematuramente. Los árboles enfermos producen frutos pequeños y de baja calidad y las infecciones sucesivas y defoliaciones ocasionan su muerte (Zapana,2012).



Figura 1. A. Área foliar afectada, B. Pústulas y signos visibles de la enfermedad y C. Uredosporas de la roya amarilla del café.
Fuente: FNC-Cenicafé (2013).

2.3.6. Ciclo de la enfermedad

El hongo tiene un ciclo de vida que consta de las etapas diseminación, germinación, colonización y reproducción (Kushalappa y Eskes, 1989 mencionado por FNC-Cenicafé, 2013).

a. Diseminación: Se realiza a través de esporas de tamaño microscópico, denominadas urediniosporas, que son producidas en grandes cantidades y que corresponden al polvillo amarillo o naranja en el envés de las hojas de café, que es característico de esta enfermedad.

b. Germinación: Es el proceso donde la espora una vez ha sido depositada en el envés de la hoja emite de uno a cuatro tubos germinativos, en un período de 6 a 12 horas. Para esta etapa el hongo requiere de una capa de agua, condiciones de poca o ninguna luminosidad, y temperaturas inferiores a 28°C y superiores a 16°C.

c. Colonización: En el interior de la hoja, el hongo desarrolla unas estructuras denominadas haustorios, que entran en contacto con las células de la planta, y son las estructuras que extraen los nutrientes para el crecimiento del hongo. Las células de café parasitadas pierden su coloración verde y en este momento se aprecian zonas cloróticas o amarillentas en la hoja, que corresponden a la aparición de los síntomas de la enfermedad.

d. Reproducción: Transcurridos otros 30 días, el hongo está lo suficientemente maduro como para diferenciarse en estructuras llamadas soros, las cuales son encargadas de producir nuevas urediniosporas, a razón de 1.600 urediniosporas/mm de hoja, por un período de 4 a 5 meses, que serán dispersadas para iniciar nuevamente el ciclo.

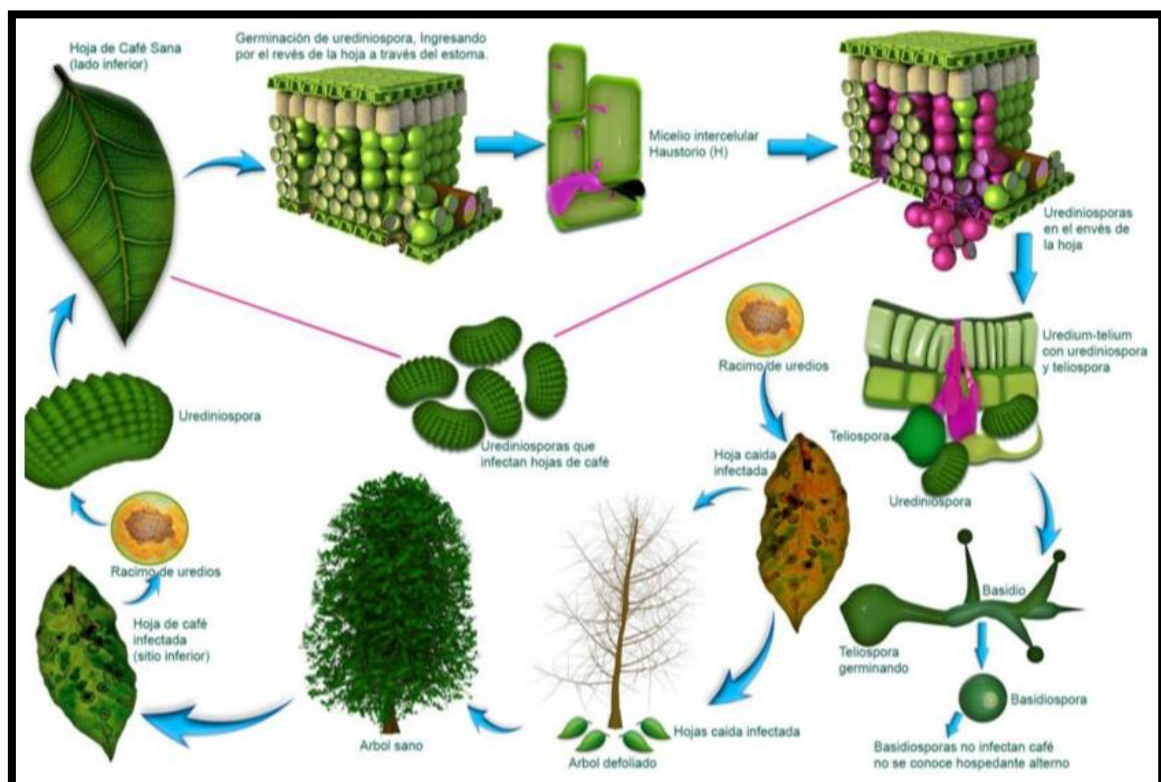


Figura 2. Ciclo de vida de *Hemileia vastatrix* Berk. & Br.
Fuente: Agrios (1996).

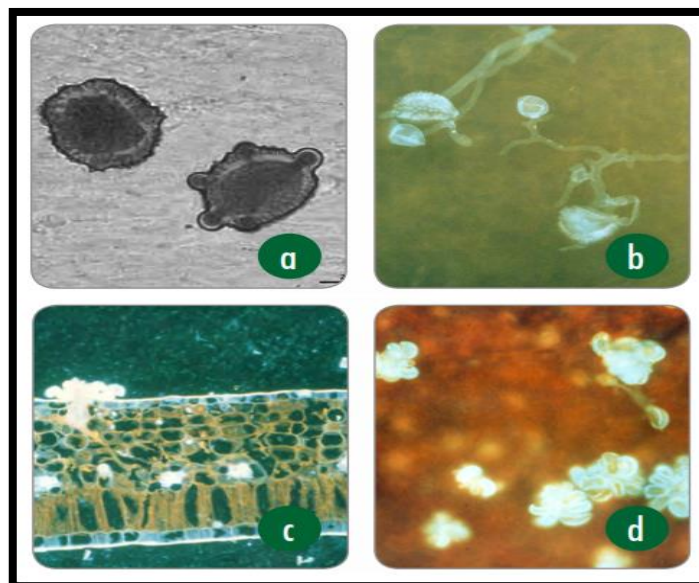


Figura 3. Ciclo de vida del hongo *Hemileia vastatrix*. a. Diseminación; b. Germinación; c. Colonización, d. Reproducción.

Fuente: FNC-Cenicafé (2013).

2.3.7. Epidemiología

2.3.7.1. Hospedante

La especie *Coffea arabica*, que produce los llamados cafés suaves. Dentro de la especie existe una gran cantidad de variedades, entre las que se cuentan las tradicionales como Típica, Borbón y Caturra, todas ellas carentes de resistencia genética ante la roya, y en cuyas plantaciones se pueden presentar ataques fuertes de la enfermedad. La especie *C. canephora*, que produce el denominado café Robusta, y que se utiliza principalmente en plantaciones por debajo de los 1.200 m en Brasil y en países de África y Asia, se destaca por su elevada resistencia a la enfermedad, aunque algunas de sus variedades pueden ser susceptibles. Además de la ausencia de resistencia genética en estas variedades de *C. arabica*, el estado fisiológico de la planta puede reducir o incrementar la susceptibilidad a la enfermedad (FNC-Cenicafé, 2013)

Dentro del mismo estado fisiológico debe considerarse la cantidad de frutos que presenta el árbol, debido a que altas producciones exigen mucho a las hojas en el proceso de llenado de los granos (Costa *et.al.*, 2006), y bajo estas condiciones los ataques de roya pueden ser mayores si no se fertilizan adecuadamente las plantas.

Esta relación entre la roya del cafeto y la producción es la razón por la cual luego de un año de alta producción, que coincide con una epidemia severa, sigue un año de producción disminuida, donde la presencia de la enfermedad es reducida (Kushalappa y Eskes, 1989 mencionado por FNC-Cenicafé, 2013).

2.3.7.2. Patógeno.

Es el hongo *Hemileia vastatrix*, de la familia de los uredinales, que se especializa en parasitar células vegetales vivas, lo que implica unos requerimientos nutricionales muy especiales, que hacen de este hongo un parásito obligado, que no puede sobrevivir en suelo o en material vegetal inerte, y que hasta ahora ha sido imposible de cultivar en condiciones de laboratorio (FNC-Cenicafé, 2013).

2.3.7.3. Factores ambientales

El hongo *Hemileia vastatrix* Berk. & Br. requiere de la salpicadura de la lluvia para poder iniciar su proceso de dispersión entre hojas y entre plantas, así como de la presencia de una capa de agua en el envés de las hojas para germinar, todo esto acompañado de unas temperaturas entre 16 y 28°C y de condiciones de bajo brillo solar (Kushalappa y Eskes, 1989 mencionado por FNC-Cenicafé, 2013).

En consecuencia, ambientes con precipitaciones constantes, especialmente en horas de la tarde o en la noche, con ocurrencia de cielos nublados, que impidan temperaturas muy altas después de mediodía o de temperaturas muy bajas en las horas de la madrugada, son propicios para el desarrollo de epidemias fuertes de roya (Gómez, 1984). Si los períodos lluviosos coinciden con las etapas de formación del fruto y de abundante follaje, momentos de mayor susceptibilidad del follaje a la infección, se hace indispensable aplicar las medidas de control químico. Este control debe iniciarse cuando la enfermedad se encuentra en su fase inicial de desarrollo, en la cual se presentan hojas afectadas en bajos porcentajes.

2.3.8 Diversidad genética y razas de roya

Al igual que existen variedades de café susceptibles y resistentes a la roya, en el hongo *Hemileia vastatrix* Berk. & Br. ocurren variantes genéticas que pueden atacar a unas variedades de café, pero a otras no. Estas variantes se denominan razas fisiológicas. La raza II es la más frecuente en la mayoría de países cafeteros del mundo (Kushalappa y Eskes, 1989 mencionado por FNC-Cenicafé, 2013).

2.4. GENERALIDADES DE LOS HONGOS ENDOFITOS

2.4.1. Definición de los hongos endófitos

Stone *et.al.* (2000) y Saikkonen *et.al.* (1998) mencionan que los hongos endófitos son un grupo de organismos asociados a los diversos tejidos y órganos de algunas plantas acuáticas y terrestres, cuyas infecciones son poco visibles y el tejido infectado del huésped se encuentra asintomática. Además, los hongos endófitos viven en los espacios intercelulares y dentro de la célula del huésped planta sin causar daño aparente.

Arnold *et.al.* (2003) mencionan que los hongos endófitos colonizan y crecen asintomáticamente dentro de los tejidos de plantas sin causar daño a sus hospederos y estos han sido ampliamente estudiados tanto en monocotiledóneas como angiospermas leñosas.

2.4.2. Diversidad y distribución de los hongos endófitos tropicales

Según las investigaciones de Petrini (1986), Rodríguez (1996) y Stone *et.al.* (2000), mencionan que todas las plantas de la tierra pueden ser hospederos de al menos un hongo endófito e inclusive los endófitos han sido aislados de plantas acuáticas.

Otro aspecto que podría ser determinante en la estructuración de las comunidades endófitas tropicales, es el de la heterogeneidad espacial de los bosques en dicha zona. Los bosques tropicales presentan una mayor complejidad estructural que otros ecosistemas, originando abundantes gradientes, microclimas y microhábitats tanto horizontal como verticalmente.

Esta compleja Arquitectura del bosque puede ser un factor importante para determinar y predecir la abundancia de organismos pequeños, tales como artrópodos y microorganismos (revisado por Lodge y Cantrell, 1995). Es común encontrar que las comunidades de hongos endófitos y epífitos varían con los estratos dentro del dosel, especialmente en la parte más alta. Varios trabajos sugieren que existen diferencias en la composición vertical de las comunidades de endófitos y epífitos en diferentes especies arbóreas del mismo bosque (Cowley, 1970; Lodge *et.al.*, 1996; Gamboa, 1998).

Concomitante con el aporte que la heterogeneidad espacial da a la diversidad de comunidades endófitas, se espera que también exista un efecto de los factores que

propician cambios temporales, es decir, sucesiones en tales comunidades. Este es un aspecto que no se ha reportado en ninguna planta tropical hasta la fecha. Solo cambios temporales en otros gremios de hongos (tales como descomponedores y micorrizas), han sido reportados hasta el momento, siendo evidente su importancia en aspectos como el destino de los nutrientes en el ecosistema (Lodge y Cantrell, 1995).

2.4.3. Mecanismos de los hongos endófitos en la protección de la planta contra los patógenos

Gao *et.al.* (2010) recientemente reportaron muchas investigaciones que se centran en el estudio de endófitos como agentes de control biológico de patógenos e insectos y aplicados con éxito endófitos para la protección de las plantas. Basados en reportes recientes, se propuso que los mecanismos potenciales de hongos endófitos son la inhibición de patógenos de plantas por varios medios, incluyendo efectos directos e indirectos y efectos ecológicos. Se puede indicar que las principales razones de hongos endófitos en la protección de plantas contra los patógenos podrían ser por la producción de fitoalexinas inducidas por hongos endófitos y ocupación ecológica endofítica.

2.4.3.1. Efectos indirectos para mejorar la resistencia en la planta

2.4.3.1.1. Promoción del crecimiento vegetal y la fisiología

Giménez *et.al.* (2007) mencionan que los endófitos pueden contribuir defensas a su planta hospedera contra organismos fitopatógenos a través del control de la fisiología de planta

Kuldau y Bacon (2008) señalan que un incremento en el crecimiento de la planta inducido por hongos endófitos evitará una gran variedad de estrés biótico y abiótico, reflejando a la planta vigor o persistencia y considerado como una protección potencial del ataque de los patógenos.

Lu *et.al.* (2000) señalan que la mejora del crecimiento de la planta puede estar influenciada por compuestos como fitohormonas producidas por hongos endófitos.

Dai *et.al.* (2008) en una previa investigación indicaron que *Fusarium* sp. extrae funciones como una auxina. El mecanismo de hongos endófito estimulando el

crecimiento del hospedante puede ser atribuido al efecto de las fitohormonas producidas por hongos endófitos.

2.4.4. Hongos endófitos y su interacción con patógenos de las plantas

Strobel, (2002) y Wang *et.al.* (2007) mencionan que muchas especies de hongos endófitos producen sustancias antibióticas.

Inácio *et.al.* (2006) y Kim *et al.* (2007) reportaron que extractos líquidos a partir de cultivos de endófitos se han encontrado para inhibir el crecimiento de varias especies de hongos patógenos de plantas. Tales compuestos producidos por hongos endófitos en la planta, podrían constituir un mecanismo de defensa contra hongos patógenicos.

Arnold *et.al.* (2003) indican que cuando una mezcla de seis especies de hongos endófitos frecuentemente aislados de árboles de cacao (*Theobroma cacao* L.) fueron utilizados para inocular hojas de plántulas libres de endófitos de esta especie vegetal, la severidad de la enfermedad de una hoja causada por *Phytophthora*. sp fue significativamente reducida en hojas inoculadas con endófitos. El mecanismo de resistencia de la planta inducida, no parece estar involucrada, debido a diferencias en la severidad de la enfermedad que se observaron entre las hojas inoculadas y no inoculadas con endófitos de la misma planta. En este caso, la protección frente a un patógeno podría ser el resultado de la competencia directa entre los endófitos que ya están presentes en las hojas y el agente patógeno. Por ejemplo, la mayoría del tejido disponible para la infección puede ya estar ocupado, o endófitos pueden producir zonas de inhibición restringiendo la entrada de otros hongos.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. MUESTREO, SELECCIÓN DE HOJA Y TALLOS DE PLANTAS DEL CAFETO

Para el muestreo se seleccionó diez sectores del distrito de San Juan del Oro y de cada sector se eligió aleatoriamente tres plantas por campo de cultivo de café maduro (≥ 2 años), plantas sanas, sin sintomatología de enfermedades. De cada planta del cafeto se tomó tres hojas del tercio inferior, tercio medio y del tercio superior asimismo de la misma planta se tomó tres trozos de tallo del tercio inferior, tercio medio y del tercio superior, las cuales se colocaron dentro de sobres de papel cubiertas con bolsas, posteriormente estas fueron llevadas al laboratorio de Fitopatología para su procesamiento (Figura 4).

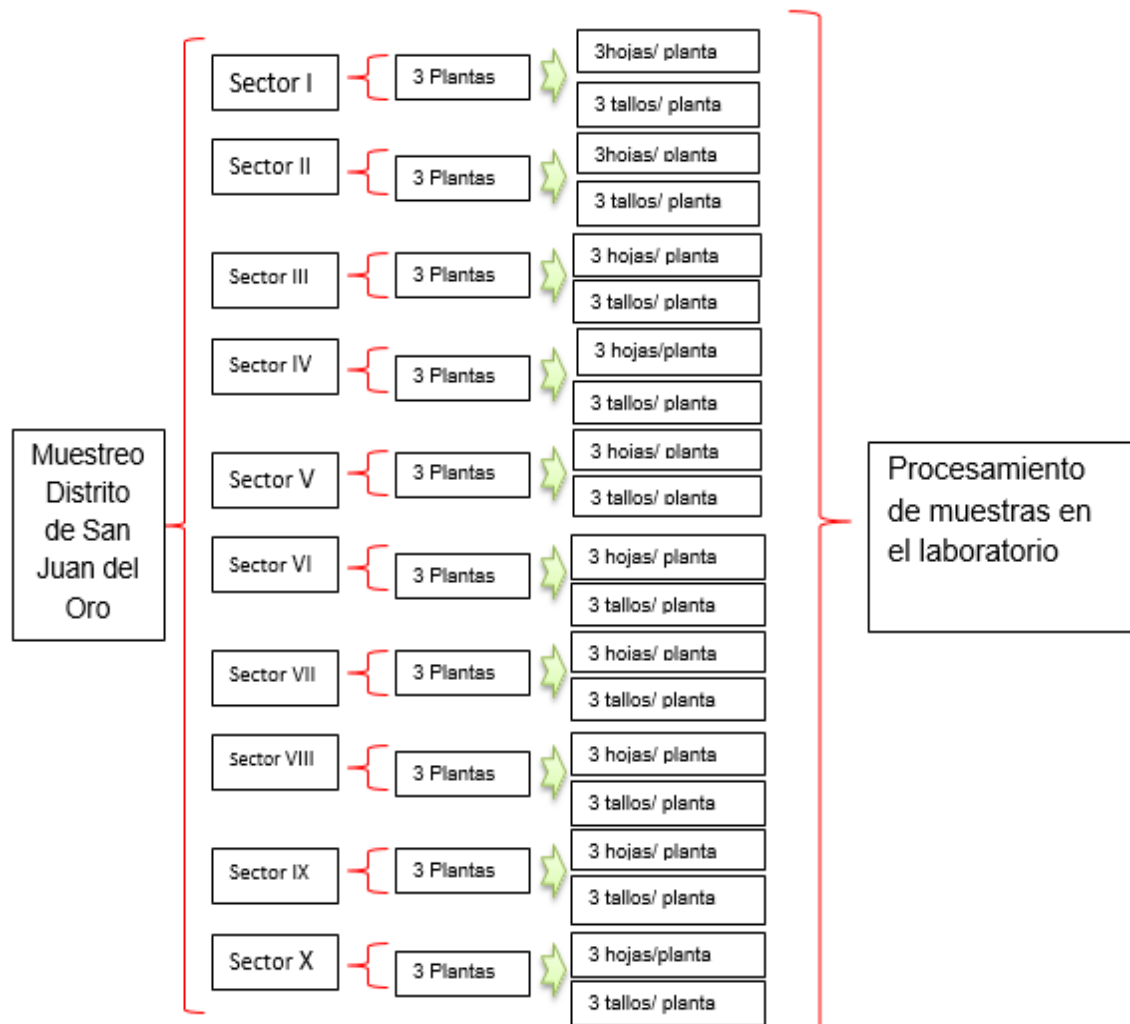


Figura 4. Diagrama de muestreo de hojas y tallos del cafeto en el distrito de San Juan del Oro.

3.2. AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE HONGOS ENDÓFITOS ANTAGÓNICOS

3.2.1. Preparación de medio de cultivos para hongos

Para ello primeramente se preparó el medio PSA (papa sacarosa agar) para un litro de medio se hizo lo siguiente: En un recipiente se incorporó 250 g. papa lavada que se picaron en trozos, y se dejó hervir con 500 ml de agua destilada por 30 min, en otro recipiente se procedió a diluir 19 g de agar con 500 ml de agua destilada luego se mezcló el caldo de papa, agar diluido y 10 g de sacarosa y se procedió a distribuirlos en matraz. Posteriormente se autoclavó a una temperatura de 120 ° C y a 15 lbs. de presión por espacio de 20 min y finalmente se plaqueó el medio en placas Petri aplicando antes el cloranfenicol (French,1980).

Para la preparación del Extracto de Malta Agar (EMA) para un litro de medio se pesó 30 g. de extracto de malta, 18 g. de agar y 10 g. de sacarosa; todos estos insumos se mezclaron en agua destilada y se procedió a distribuirlos en matraz. Posteriormente se autoclavó a una temperatura de 120 ° C y a 15 lbs. de presión por espacio de 20 min y finalmente se plaqueó el medio en placas Petri aplicando antes el cloranfenicol (French, 1980).

3.2.2. Metodología para aislar hongos endófitos a partir de hojas y tallos del cafeto

Las hojas y tallos colectados se cortaron en secciones pequeñas (3-5 mm²) entre la nervadura central y el borde de la hoja. De igual forma se cortaron los tallos en secciones pequeñas (3-5 mm²). Después se procedió a la esterilización del material cortado de tallos y hojas mediante inmersión consecutiva, 3 min en hipoclorito de sodio 2 %, 1 min en alcohol 70 % y cinco lavados con agua destilada estéril y se sembró seis secciones pequeñas de hojas y tallos en placas Petri contenido el medio PSA luego se incubaron a 25°C durante 7 días que se muestran en las figuras 5,6 y 7 (Modificación de Agrios,1996).

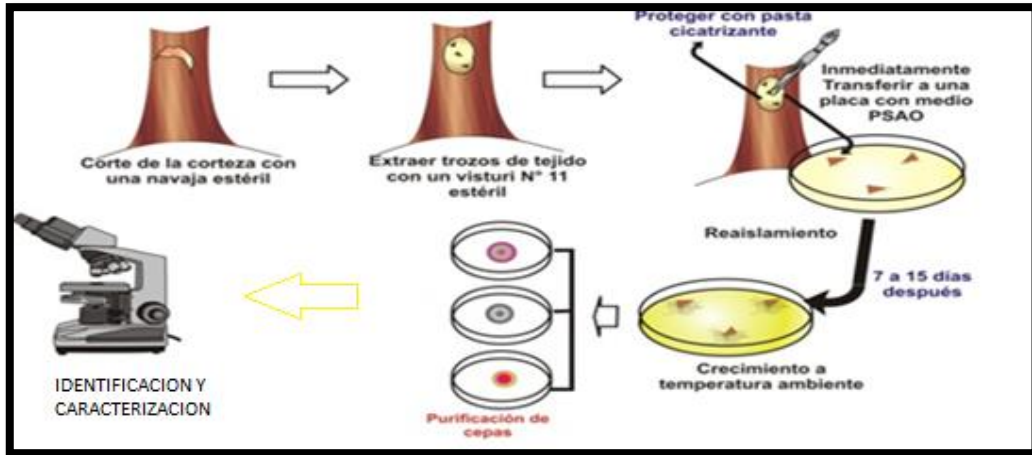


Figura 5. Pasos para el aislamiento de hongos endófitos de tallo.
Fuente: Leon (2016).

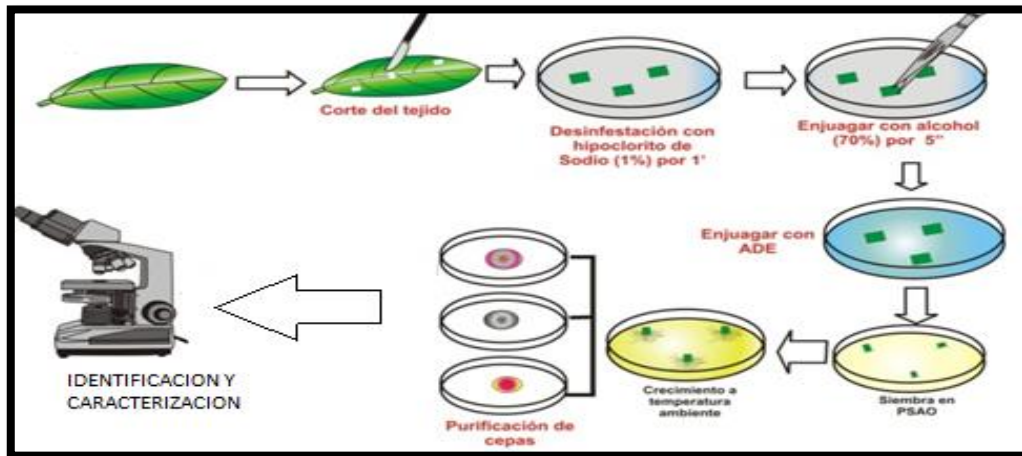


Figura 6. Pasos para el aislamiento de hongos endófitos de hojas.
Fuente: Leon (2016).

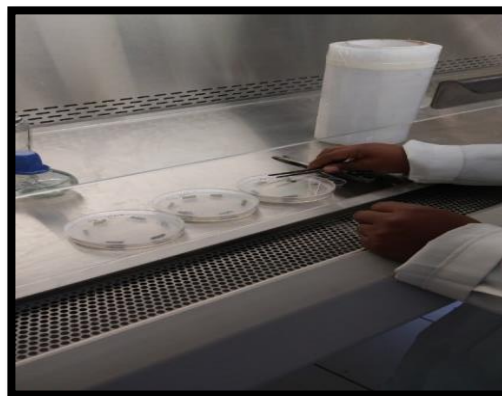


Figura 7. Siembra de tallos ya desinfectados en medio PSA en cámara de flujo laminar.

3.2.3. Repique de los hongos endófitos

A partir de los hongos aislados en placas Petri en medio PSA, en función de los tipos de micelio desarrollados se realizó varios repiques para obtener un cultivo

puro, que consistió en extraer del borde de la colonia un trozo de micelio para sembrarlo en otra placa petri conteniendo medio PSA que se incubó a 25°C y luego se esperó la formación de estructuras reproductivas necesarias para la identificación del hongo endófito.

3.2.4. Identificación del hongo endófito

Para la identificación de los hongos endófitos se observaron las características culturales de la colonia (aspecto, coloración, etc.) y las características microscópicas (tipo y tamaño de las estructuras vegetativas y de reproducción), y para la identificación a nivel de género se utilizaron las claves de Barnett (1998) & Barrón (1968). Las que se identificaron como hongos endófitos antagonistas se volvieron a sembrar en medio PSA y EMA para su caracterización cultural (Figura 8A).

3.3. CARACTERIZACIÓN DE HONGOS ENDÓFITOS ANTAGÓNICOS

Para la caracterización se utilizó cinco cepas de *Trichoderma* sp. endófitos donde se evaluó las características microscópicas (tamaño de conidias) y culturales (elevación, forma, borde, color y tasa de crecimiento figura 8B, 8C y 8D). La tasa de crecimiento, se obtuvo a través de la media aritmética del crecimiento micelial por día, expresada en centímetros; la medición de las conidias se realizó utilizando el micrómetro ocular, cuyos datos promedios se multiplicaron por el factor de conversión obtenidos en la calibración del microscopio, según objetivo ocular expresados en micras.

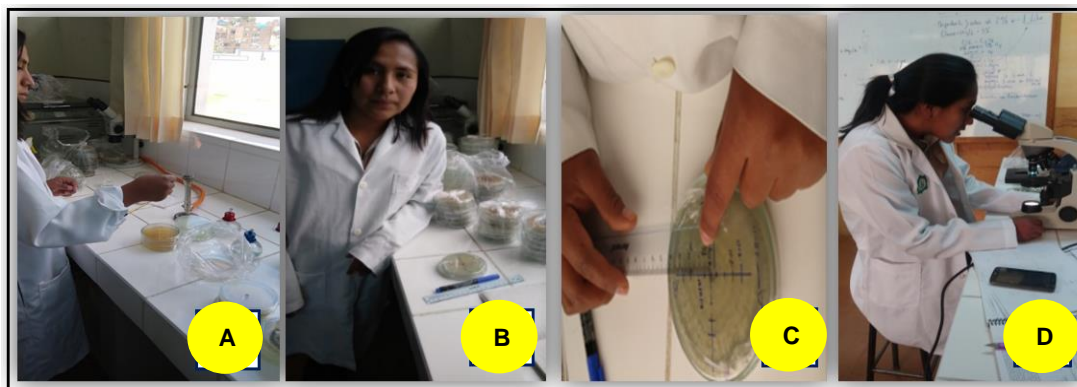


Figura 8. Caracterización de hongos endófitos. A. Siembra de hongos en medio PSA y EMA, B y C. Medición de crecimiento de *Trichoderma* sp. D. Medición de conidias en el laboratorio de la UNA-Puno.

3.4. EFECTO DE LA APLICACIÓN DE HONGOS ENDÓFITOS ANTAGÓNICOS EN EL DESARROLLO DE PLANTONES DE CAFÉ (*Coffea arabica* L.) EN EL DISTRITO DE SAN JUAN DEL ORO

3.4.1. Producción de cepas de *Trichoderma* sp. endófito aisladas

Para la preparación del sustrato se hizo una pre-cocción de cebada, luego se colocó 400 g. en bolsas de polipropileno. Se aplicó carbonato de calcio 5.4g disuelto en un litro de agua destilada y en cada bolsa se aplicó 20ml de esta mezcla sobre el sustrato y luego se removió el sustrato, finalmente se engrampo las bolsas en el borde superior y se esterilizó en autoclave a 120 °C y 15 libras de presión por 20 minutos. Después de la esterilización se procedió a inocular sobre el sustrato las cinco cepas de *Trichoderma* sp. endófito y se colocó para su incubación (Figura 9 y 10).

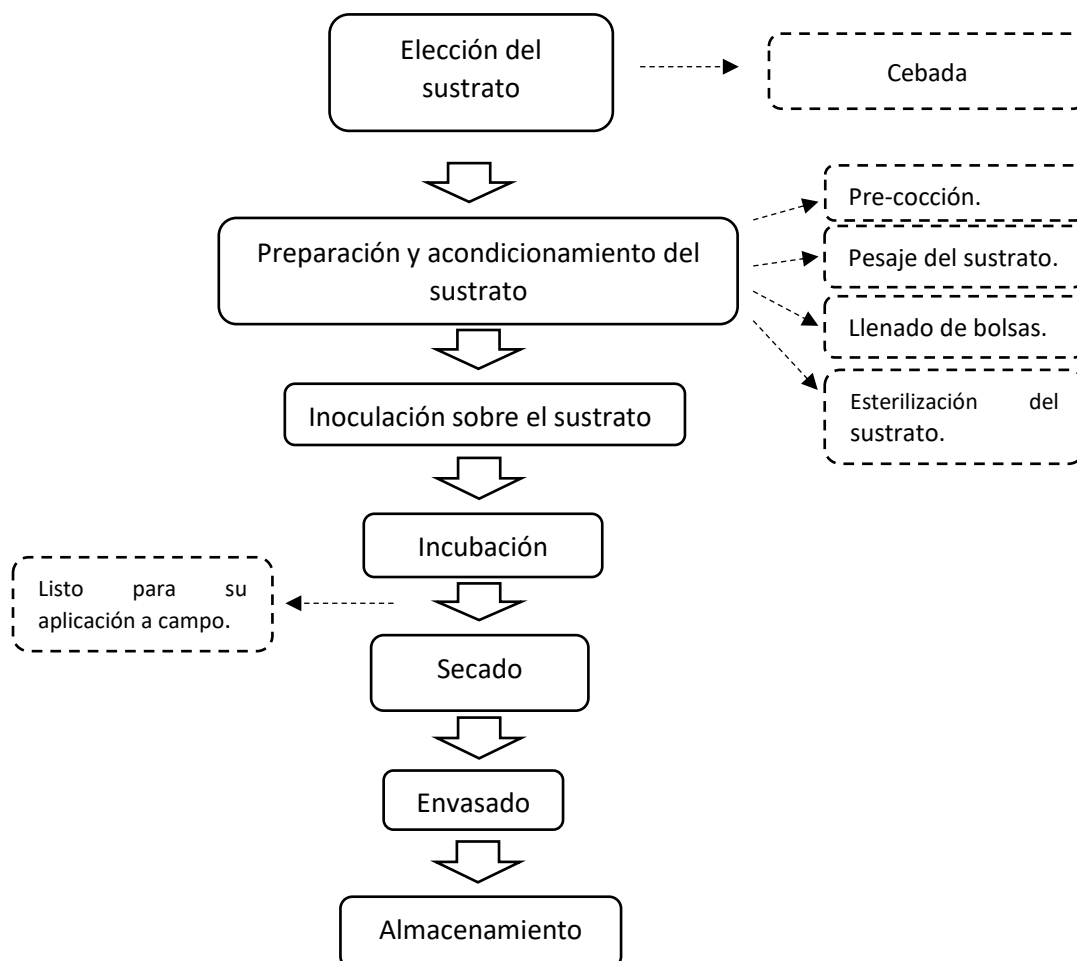


Figura 9. Diagrama de proceso de producción de *Trichoderma* sp.
Fuente: Sivila y Álvarez, (2013).



Figura 10. Producción de cepas de *Trichoderma* sp. endófito en sustrato de cebada. A. Llenado de bolsas con sustrato de cebada. B. Inoculación con las cepas de *Trichoderma* sp. endófito sobre el sustrato de cebada y C. Incubación

3.4.2. Determinación de la producción de conidios

La determinación de la producción de conidios se determinó por conteo directo de conidios en cámara de Neubauer., para lo cual se pesó 1g. de sustrato de cebada colonizadas con cepas de *Trichoderma* sp. endófito para realizar diluciones seriadas de 10^{-3} y se determinó el número de conidios por gramo de sustrato cebada. A partir de estos datos se estandarizó el inoculó a una concentración de 1×10^7 ufc. ml⁻¹

3.4.3. Almacigado de semillas de café

Para la preparación del almacigo se utilizó arena fina de río que previamente se puso a solarizar, luego de ello se colocó la arena en un germinador que posteriormente se distribuyó las semillas de café variedad caturra y finalmente se cubrió la semilla con una capa de arena y después de 75 a 80 días se realizó el repique de cabecitas de fósforo de caféto (Figura 11).



Figura 11. Plántulas de café en estado fosforito listas para ser repicadas en las bolsas que contienen el sustrato preparado.

3.4.4. Preparación del sustrato para el vivero

Se trasladó tierra agrícola al lugar donde se instaló el vivero posteriormente se zarandó la tierra con una malla de 1/2 pulgada (Figura 9A). Luego de ello se aplicó ceniza a la tierra y finalmente se hizo el embolsado en bolsas de polietileno y se ordenó las bolsas en el vivero (Figura 12A y 12B).

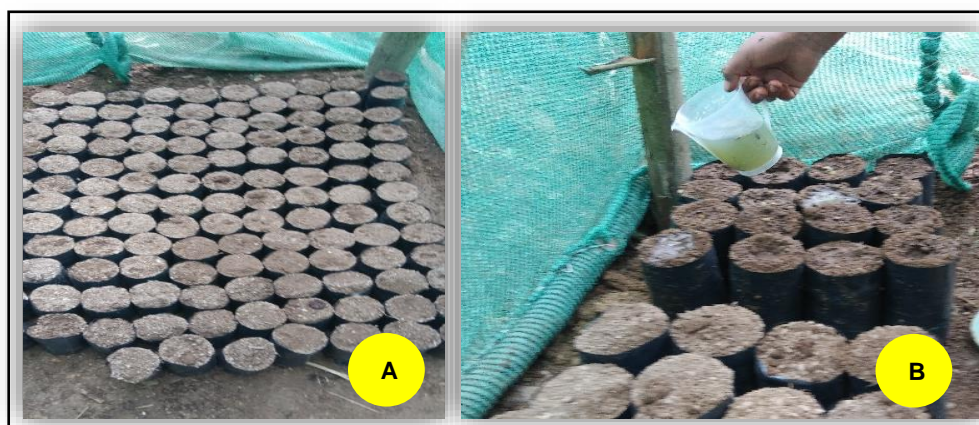


Figura 12. A. Embolsados del sustrato para el repique de plántulas de café y B. Aplicación de *Trichoderma* sp. a las bolsas contenido el sustrato para que estén a capacidad de campo con los distintos tratamientos a nivel de vivero.

3.4.5. Repique de las plántulas de café (*Coffea arabica* L.)

Para el repique se seleccionó aquellas plántulas que presentaron tallo y raíz recto libre de enfermedad. Antes de realizar el repique se procedió a cortar la raíz de las plántulas con cabecita de fosforo, luego de ello se procedió al repique con ayuda de una estaca con el fin de realizar agujero e introducir las plántulas (Figura 13A).

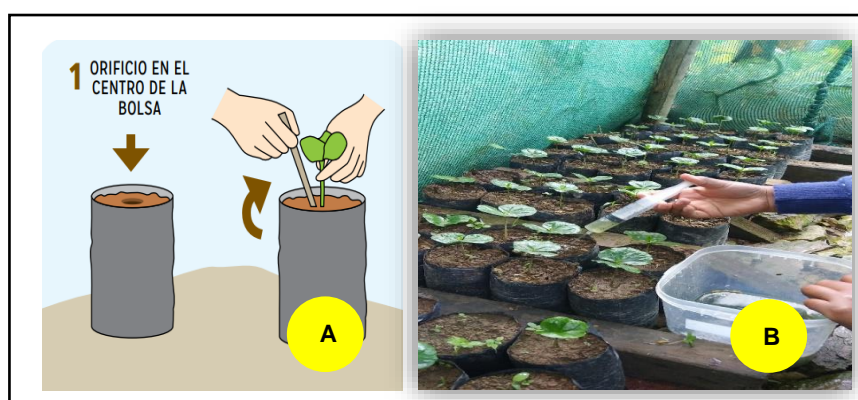


Figura 13. A. Repique de plántulas de café y B. Aplicación de cepas de *Trichoderma* sp. endófito a nivel de vivero.

3.4.6. Aplicación de hongos endófitos antagonistas

Infestación del suelo con hongos endófitos antagonistas vía drench, para ello se preparó una suspensión de conidios de 1×10^7 ufc.cc⁻¹ de las cinco cepas de *Trichoderma* sp., que consistió en aplicar sobre la superficie del suelo la mezcla de hongo endófito disueltos en agua y se aplicó cada treinta días por tres meses (Figura 12B y 13B).

3.5. CAPACIDAD DE BIOCONTROL DE LOS HONGOS ENDÓFITOS ANTAGÓNISTAS HACIA LA ROYA DEL CAFÉ (*Hemileia vastatrix*) EN EL DISTRITO DE SAN JUAN DEL ORO

3.5.1. Inoculación de la roya amarilla (*Hemileia vastatrix* Berk. & Br.) en plántulas de café

Se colectó hojas con presencia de roya amarilla en los campos de cultivo de café (*Coffea arabica* L.) variedad Caturra. Estas hojas se transportaron en cámara húmeda hasta el laboratorio; luego se cortó 1cm² de cada hoja y se colocó en tubos de ensayo conteniendo agua destilada 5ml. Para la liberación de las uredosporas se utilizó detergente tween 80, seguidamente se agitó el tubo de ensayo conteniendo la muestra y la solución para homogenizar. Luego se procedió a contar las uredosporas en 1ml de solución colocando una gota en la cámara de neubauer. Y se inoculó las uredosporas de *Hemileia vastatrix* una concentración de 2×10^4 ml./en plántulas de cafeto a nivel de vivero mencionado por García *et.al.* (1992) (Figura 14).

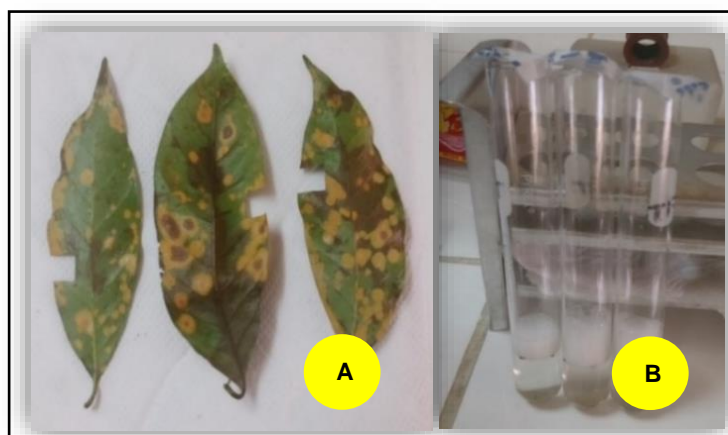


Figura 14. A. Selección de hojas con síntomas visibles de la enfermedad con posterior corte de 1cm² y B. Diluciones con twin para el conteo de las uredosporas.

3.5.2. Aplicación del biocontrol con cepas de *Trichoderma* sp. endófito

Se realizaron aplicaciones foliares en plántones de cuatro meses de edad con cinco cepas de *Trichoderma* sp. endófito con una concentración de esporas de 1×10^7 ufc.cc⁻¹ a las 24 horas después de la inoculación de las uredosporas de *Hemileia vastatrix* del café (Figura 15).



Figura 15. Aplicación de uredosporas de la roya amarilla (*Hemileia vastatrix*) en plántones de café a nivel de vivero.

3.6. METODOLOGÍA DE EVALUACIÓN

3.6.1. Altura de planta (cm)

Para obtener los datos de altura de planta se midió con ayuda de una regla desde el cuello de la planta hasta el ápice del tallo, esta evaluación se realizó a partir de los treinta días del repique por tres meses (Figura 16A).



Figura 16. Evaluación de crecimiento de plantas de café. A. Altura de planta y B. Diámetro de tallo a nivel de vivero en plántones de café en el distrito de San Juan del Oro.

3.6.2. Diámetro de tallo (mm)

Se realizó cada 30 días con el Vernier, se consideró el diámetro a la altura de 3 cm del suelo por tres meses (Figura 16B).

3.6.3. Longitud de raíz principal (cm)

Se realizó con ayuda de una regla desde el cuello de la planta hasta la cofia de la raíz principal esto se realizó al tercer mes de evaluación.

3.6.4. Número de hojas (unidad)

Esta evaluación se realizó tomando cinco plantas por tratamiento y haciendo un conteo por planta, se realizó al tercer mes de evaluación.

3.6.5. Incidencia de la roya amarilla (%)

Para la evaluación de incidencia de la roya amarilla se tomó dos hojas por planta que se realizó a los 115 días cada cinco días después de la primera evaluación. Para ello se registró los siguientes datos para la evaluación:

- Número de hojas sanas por planta: Se contabilizó plantones de cada tratamiento, el número de hojas sanas.
- Número de hojas atacadas por roya amarilla por planta: Se registró el número de hojas que presentan roya amarilla por planta.

El cálculo de la incidencia según SENASA, 2003 se efectúa mediante la siguiente fórmula:

$$\text{Incidencia (\%)} = \frac{\text{N}^\circ \text{ de plantas afectados o dañados}}{\text{N}^\circ \text{ de plantas observados}} \times 100$$

3.6.6. Severidad de la roya amarilla (*Hemileia vastatrix*) (%)

Para la evaluación de severidad de la roya amarilla se realizó a los 115 días por cinco días después de la primera evaluación. Para ello se realizó con ayuda de la tabla 1 y figura 17 y el porcentaje de severidad según SENASA, 2003 se calcula por la siguiente fórmula:

$$\% S = \frac{\sum (n \times g)}{N \times G}$$

Donde:

n = número de lesiones

g = grado de la lesión de acuerdo a la escala

N = número total de lesiones

G = número total de grados de la escala empleada

Tabla 1. Escala de severidad para la roya amarilla.

Grado	Descripción
0	Sano o síntomas visibles
1	Síntomas visibles llegando de 1 a 5% del área total sana
2	Las manchas empiezan a unirse llegando a ocupar del 6 al 20% del área sana
3	Las hojas comienzan a necrosarse de manera muy notoria afectando el 21 al 50% del área sana
4	Mayor al 50% del área foliar se encuentra afectada

Fuente: SENASA (2003).

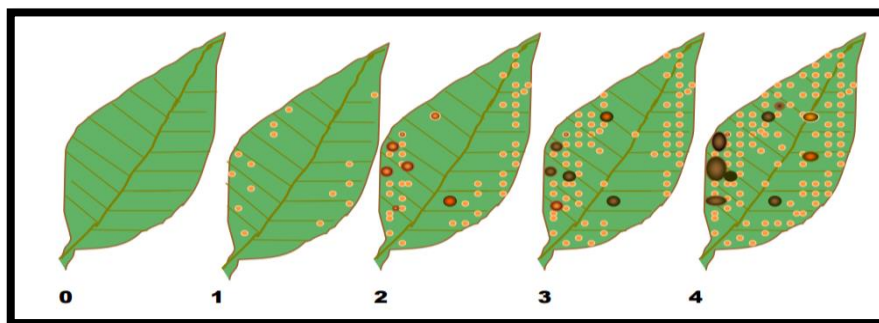


Figura 17. Grado de Calificación de la Roya Amarilla del caféto.

Fuente: SENASA (2003).

3.6.7. Área bajo la curva del progreso de la enfermedad (AUDPC)

Para describir el desarrollo de la enfermedad e identificar diferencias entre los tratamientos se calculó el valor del área bajo la curva de progreso de la enfermedad (AUDPC), en base a cinco mediciones de severidad. La fórmula general para el cálculo que se aplicó es la siguiente:

$$AUDPC = \sum_i^{n-1} \left(\frac{Y_i + Y_{i+1}}{2} \right) \times t_{i+1} - t_i$$

Donde **n** es el número de evaluaciones, **y** es la severidad y **t** es el número de días después de la siembra en que se hace la evaluación.

3.7. DISEÑO EXPERIMENTAL Y ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para evaluar el efecto de las cinco cepas de *Trichoderma* sp endófito sobre el crecimiento y la capacidad de biocontrol de los hongos antagonistas hacia la roya del café (*Hemileia vastatrix* Berk. & Br.), se empleó un Diseño Completamente al Azar, con cinco cepas de *Trichoderma* sp. y dos testigos enfermo y absoluto haciendo un total de 7 tratamientos con 5 repeticiones.

En la evaluación se tomaron los siguientes parámetros: altura de planta, diámetro de tallo, número de hojas, longitud de raíz principal de plantones de cafeto, incidencia, severidad expresado en porcentaje la cual fue transformada a log y área bajo la curva del progreso de la enfermedad. Los análisis de los resultados obtenidos fueron evaluados mediante un análisis de varianza, posteriormente se realizó pruebas de contraste de Duncan, todo ello con un nivel de confianza del 95% y un margen de error del 5%.

Modelo estadístico lineal:

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + e_{ij}$$

$i = 1, 2, \dots, t$ = número de tratamientos

$j = 1, 2, \dots, n$ = número de repeticiones

Donde:

Y_{ij} : Es la variable de respuesta observada en la unidad experimental y ubicada j -ésimo bloque que recibe el i -ésimo tratamiento.

μ : Es la variable común o promedio de la población.

τ_i : Es el efecto del i -ésimo tratamiento.

e_{ij} : Es el error experimental

3.8. CARACTERIZACIÓN DEL ÁREA DE INVESTIGACIÓN.

3.8.1. Ámbito de estudio

El presente trabajo de investigación se ejecutó en el laboratorio de fitopatología de la Escuela Profesional de Ingeniería Agronómica de la Universidad Nacional del Altiplano y en el distrito de San Juan del Oro en el sector San Martín de Tambopata.

3.8.2. Ubicación política

Región : Puno
Provincia : Sandía
Distrito : San Juan del Oro

3.8.3. Ubicación geográfica

Latitud Sur : 14° 13' 15.7" S (-14.22103979000)
Longitud Oeste : 69° 9' 13.4" W (-69.15372113000)
Altitud : 1315 msnm

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. AISLAMIENTO Y CARACTERIZACIÓN DE HONGOS ENDÓFITOS DE HOJAS Y TALLOS ANTAGÓNICOS DE FITOPATÓGENOS DEL CAFETO (*Coffea arabica* L.) EN EL DISTRITO DE SAN JUAN DEL ORO

4.1.1. Aislamiento de hongos endófitos de hojas y tallos

La tabla 2 muestra el número total de cepas de hongos endófitos aisladas de hojas y tallos del cafeto procedentes del distrito de San Juan del Oro, se aislaron en total 425 cepas de las cuales 212 son de hoja y 213 de tallo de hongos endófitos de plantas de café en campo definitivo. Así mismo se obtuvo un mayor aislamiento en el sector de Belén con 76 cepas seguido de Pajchani, San Martín de Tambopata con 57 y 49 cepas respectivamente y en donde no se logró aislar de hojas fue en el sector de Nogalani y en donde se obtuvo menor número de aislamientos con 12 cepas de tallos del cafeto.

Tabla 2. Número total de cepas de hongos endófitos aisladas de hojas y tallos del cafeto procedentes del distrito de San Juan del Oro.

N°	Sector	Número de cepas aisladas		Total
		Hoja	Tallo	
1	Muyuhuasi	10	18	28
2	Pajchani	29	28	57
3	Torre Alegre	28	16	44
4	Belén	53	23	76
5	Challohuma	14	25	39
6	Botijani	10	15	25
7	Yanamayo	23	18	41
8	Yurajamayo	15	39	54
9	San Martín de Tambopata	30	19	49
10	Nogalani	0	12	12
Total de cepas aisladas		212	213	425

En la tabla 3 muestra los géneros de hongos endófitos aislados de la planta del cafeto de hojas y tallos de los distintos sectores procedentes del distrito de San Juan del Oro, donde se identificó seis géneros como: *Colletotrychum*, *Pestalotiopsis*, *Xylaria*, *Botryosphaeria*, *Fusarium*, *Trichoderma*. En el sector que se logró aislar mayor número de géneros fue en el sector Belén y asimismo en tallos; donde se obtuvo menor número de aislamientos de cepas endófitos fue en el sector Nogalani.

Tabla 3. Géneros de hongos endófitos aislados de la planta del cafeto de hojas y tallos de los distintos sectores procedentes del distrito de San Juan del Oro.

Sector	Órgano	Géneros	Total géneros
Muyuhuasi	Hoja	<i>Pestalotiopsis</i> , Micelio Estéril.	1
	Tallo	Micelio Estéril, <i>Colletotrychum</i> , <i>Xylaria</i> , <i>Botryosphaeria</i> .	3
Pajchani	Hoja	Micelio Estéril, <i>Xylaria</i> , <i>Pestalotiopsis</i> , <i>Botryosphaeria</i> .	3
	Tallo	Micelio Estéril, <i>Pestalotiopsis</i> , <i>Xylaria</i> , <i>Botryosphaeria</i> , <i>Colletotrychum</i> .	4
Torre Alegre	Hoja	<i>Xylaria</i> , Micelio Estéril, <i>Fusarium</i> , <i>Botryosphaeria</i> , <i>Colletotrychum</i> .	4
	Tallo	Micelio Estéril, <i>Colletotrychum</i> , <i>Pestalotiopsis</i> , <i>Xylaria</i> , <i>Fusarium</i> , <i>Botryosphaeria</i> .	5
Belén	Hoja	<i>Xylaria</i> , Micelio Estéril, <i>Fusarium</i> , <i>Pestalotiopsis</i> , <i>Colletotrychum</i> , <i>Botryosphaeria</i> .	5
	Tallo	<i>Xylaria</i> , Micelio Estéril, <i>Pestalotiopsis</i> , <i>Botryosphaeria</i> , <i>Colletotrychum</i> .	4
Challohuma	Hoja	Micelio Estéril, <i>Trichoderma</i> , <i>Colletotrychum</i> , <i>Botryosphaeria</i> .	3
	Tallo	<i>Xylaria</i> , <i>Fusarium</i> , <i>Pestalotiopsis</i> , <i>Trichoderma</i> , <i>Botryosphaeria</i> .	5
Botijani	Hoja	Micelio Estéril, <i>Xylaria</i> , <i>Colletotrychum</i> , <i>Botryosphaeria</i> .	3
	Tallo	<i>Pestalotiopsis</i> , <i>Colletotrychum</i> , <i>Botryosphaeria</i> .	3
Yanamayo	Hoja	Micelio Estéril, <i>Pestalotiopsis</i> , <i>Botryosphaeria</i> , <i>Colletotrychum</i> .	3
	Tallo	Micelio Estéril, <i>Xylaria</i> , <i>Botryosphaeria</i> , <i>Pestalotiopsis</i> , <i>Colletotrychum</i> .	4
Yurajmayo	Hoja	Micelio Estéril, <i>Pestalotiopsis</i> , <i>Colletotrychum</i> , <i>Botryosphaeria</i> .	3
	Tallo	<i>Fusarium</i> , <i>Pestalotiopsis</i> , <i>Xylaria</i> , Micelio Estéril, <i>Trichoderma</i> , <i>Botryosphaeria</i> .	5
San Martín de Tambopata	Hoja	Micelio Estéril, <i>Xylaria</i> , <i>Pestalotiopsis</i> , <i>Colletotrychum</i> , <i>Botryosphaeria</i> .	4
	Tallo	Micelio Estéril, <i>Colletotrychum</i> , <i>Xylaria</i> .	2
Nogalani	Hoja	-	0
	Tallo	<i>Xylaria</i> , Micelio Estéril, <i>Pestalotiopsis</i> , <i>Botryosphaeria</i> .	3

Los géneros que se aislaron en medio PSA en total son 6 géneros: *Colletotrychum* con 22 cepas tanto de tallo y hoja; en *Pestalotiopsis* se obtuvo en tallo 19 cepas y hojas un total de 13 de este género; en *Xylaria* se aisló 35 de tallo y 11 cepas de hoja; en *Botryosphaeria* se logró aislar mayor número de cepas con 68 de tallo y 44

en hoja; en caso de *Fusarium* se logró poco aislamiento, así como también en el género *Trichoderma* (tabla 4).

Tabla 4. Cepas de hongos endófitos por cada género aislados de la planta del cafeto de hojas y tallos procedentes del distrito de San Juan del Oro.

N°	Género	Cepas		Total
		Tallo	Hoja	
1	<i>Colletotrychum</i>	22	22	44
2	<i>Pestalotiopsis</i>	19	13	32
3	<i>Xylaria</i>	35	11	46
4	<i>Botryosphaeria</i>	68	44	112
5	<i>Fusarium</i>	6	2	8
6	<i>Trichoderma</i>	3	2	5

4.1.2. Descripción de géneros aislados de hojas y tallos del cafeto procedente del distrito de San Juan del Oro

a) *Botryosphaeria* sp.

Características culturales: Los aislamientos de *Botryosphaeria* en medio de cultivo PSA presentaron un desarrollo algodonoso, de tonalidad negra en el anverso y reverso de la colonia; elevación plana, forma circular y borde entero (Figura 18A y 18B).

Características microscópicas: Se observa la presencia de cuerpos estromáticos, conteniendo los picnidios, de paredes negras (Figura 18C).

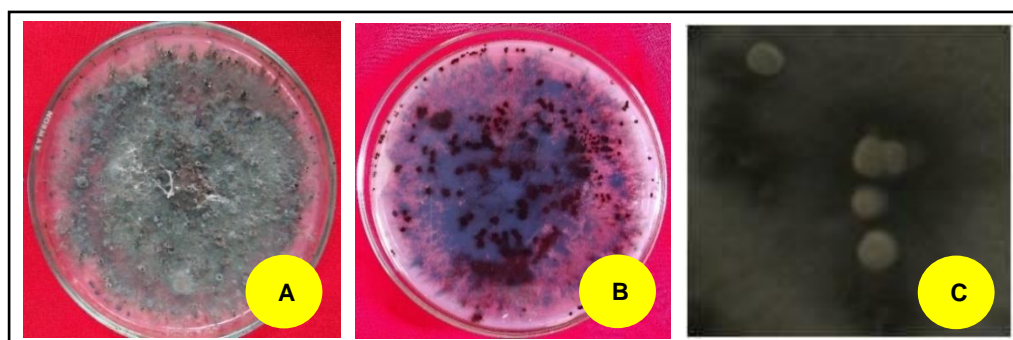


Figura 18. Características culturales y microscópicas de *Botryosphaeria* sp. A. Anverso, B. Reverso de la colonia en medio PSA que muestra una coloración de color negro y C. Picnidios.

b) *Colletotrychum* sp.

Características culturales: Los aislamientos de *Colletotrychum* en medio de cultivo PSA presentaron un desarrollo de textura algodonosa de coloración blanco a negro de forma circular, elevación elevada con borde entero (Figura 19A).

Características microscópicas: Presentaba esporoquio amarillo, con setas. Conidios elipsoidales, hialinos. Setas oscuras de forma aguda en el ápice (Figura 19B)

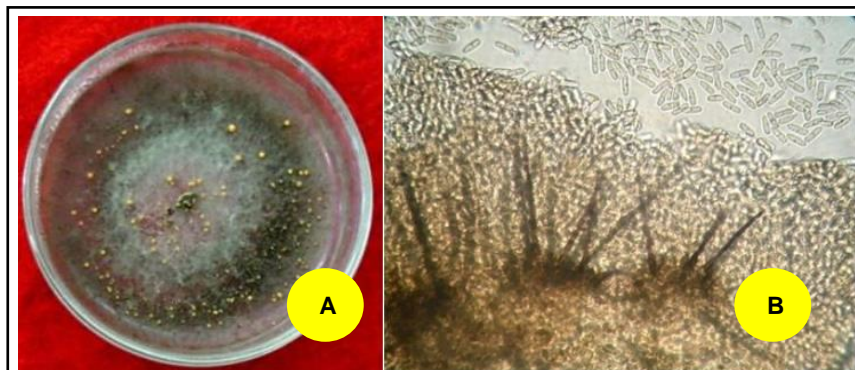


Figura 19. Características culturales y microscópicas de *Colletotrychum* sp. A. Anverso y B. Conidia y Esporoquios.

c) *Xylaria* sp.

Características culturales: Los aislamientos de *Xylaria* en medio de cultivo PSA presentaron un desarrollo esponjoso de coloración blanco y negro; de forma irregular, elevación elevada con borde ondulado (Figura 20A y 20B).

Características microscópicas: Presentaban estromas largos de forma clavada al final, de coloración blanco y negro (Figura 20C).

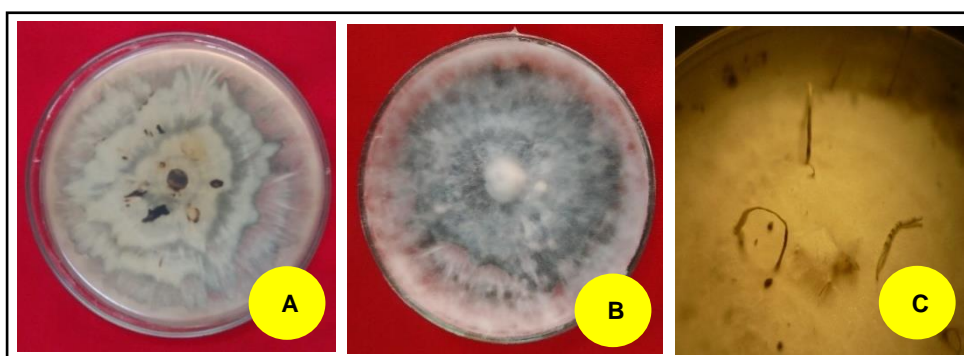


Figura 20. Características culturales y microscópicas de *Xylaria* sp. A. Reverso, B. Anverso de la colonia en medio PSA y C. Estromas.

d) *Pestalotiopsis* sp.

Características culturales: Los aislamientos de *Pestalotiopsis* en medio de cultivo PSA presentaron una coloración blanquecina, a medida que se desarrollaba el hongo se formaron puntos de color negro, así mismo se observó las siguientes

características de la colonia: forma circular, elevación plana y borde entero (Figura 21A).

Características microscópicas: Presentaba conidios elipsoidales, corto de 3 a 4 celdas, con 2-4 apéndices y 1 apéndice corto (pedicelo) (Figura 21B).

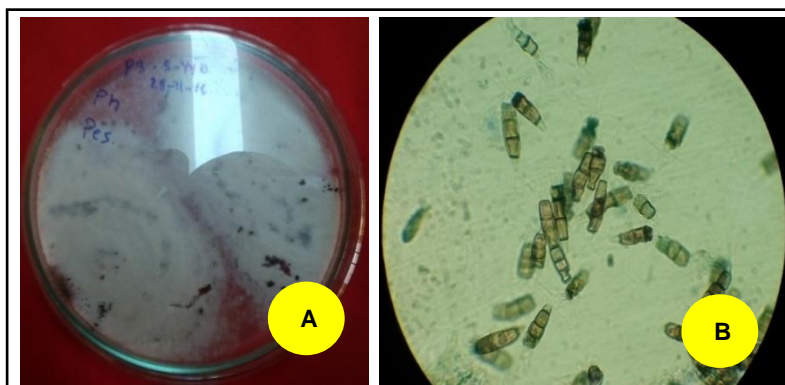


Figura 21. Características culturales y microscópicas de *Pestalotiopsis* sp. A. Colonia en medio PSA y B. Conidia.

e) *Fusarium* sp.

Características culturales: Los aislamientos de *Fusarium* en medio de cultivo PSA presentaron una coloración blanquecina con elevación plana, forma circular y borde filamentoso y de coloración blanco (Figura 22A y 22B)

Características microscópicas: Presentaban hifas con conidióforos hialinos ramificado, que lleva conidios en cadena y macroconidios en forma de barco barco (Figura 22C).

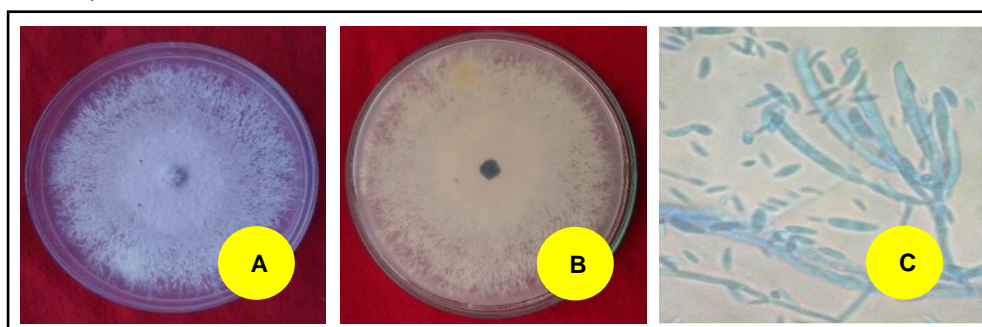


Figura 22. Características culturales y microscópicas de *Fusarium* sp. A. Anverso, B. Reverso de la colonia en medio PSA y C. Conidióforo y conidia.

f) *Trichoderma* sp.

Características culturales: Los aislamientos de *Trichoderma* en medio de cultivo PSA presentaban una coloración de verde que muestra una forma circular excepto

el T4, con elevación plana a elevada de margen entero a ondulado (Figura 23. A, B, C, D y E).

Características microscópicas: Presentaban hifas con conidióforos ramificados, que lleva masa de conidios en cada uno de las fiálides que son cortas (Figura 23F).

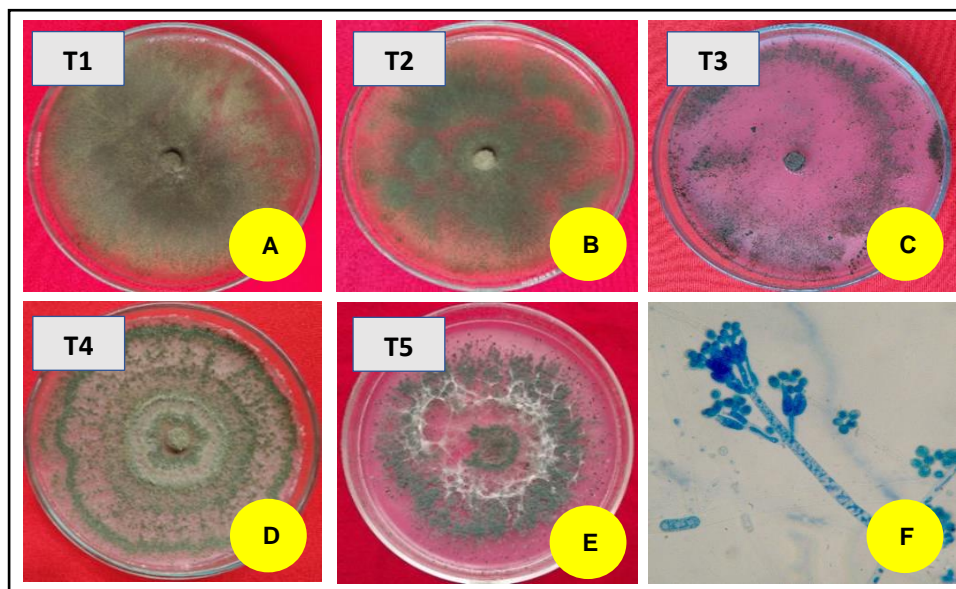


Figura 23. Características culturales y microscópicas de *Trichoderma* sp. A, B, C, D. Anverso de la colonia en medio PSA y F. Conidióforo y conidios.

4.1.3. Caracterización morfológica de los hongos endófitos *Trichoderma* sp.

Para la caracterización se realizó de los géneros ampliamente estudiadas y aplicados como control biológico, se encuentra las del género *Trichoderma*, debido a su eficaz control, capacidad reproductiva, plasticidad ecológica, efecto estimulante sobre los cultivos y recientemente se detectó su acción como inductor de resistencia sistémica en la planta a diferentes patógenos (Infante *et.al.*, 2009).

Se aisló cinco cepas del género *Trichoderma* que mostraron distintas características entre ellas que se aislaron de dos sectores: Challohuma con 4 cepas (2 de tallos y de hojas) y del sector de Yurajmayo solo una cepa del tallo del cafeto. Para la caracterización se tomaron distintas características culturales como son elevación, forma, borde de la colonia y se evaluó el tamaño de la conidia en μm y color (Tabla 5

Tabla 5. Caracterización de cepas de *Trichoderma* sp. endófito aislado de hojas y tallos de la planta del café procedentes del distrito de San Juan del Oro.

N°	Procedencia	Órgano	Tasa de crecimiento (cm/día)			Color de la Colonia			Características culturales			Tamaño de conidia µm (promedio)
			Medio PSA	Medio EMA	Medio PSA	Medio EMA	Medio PSA	Medio EMA	Elevación	Forma	Borde	
1	Challohuma	Hoja	0.94	1.23	7.5Y 6/8	5GY 4/4	Plana	Circular	Filamentosa		2.85	
2	Challohuma	Hoja	1.15	1.33	7.5Y 5/6	2.5Y 5/4	Plana	Circular	Filamentosa		2.89	
3	Challohuma	Tallo	1.98	2.38	5.6Y 3/6	2.56Y 8/6	Plana	Circular	Entero		3.087	
4	Challohuma	Tallo	1.93	2.46	5GY 6/3	5GY 8/4	Elevada	Circular	Ondulado		3.75	
5	Yurajmayo	Tallo	1.20	2.45	5.6Y 4/4	10Y 5/4	Plana	Circular	Entero		3.56	

a) Morfotipo 1 (T1)

Esta cepa de *Trichoderma* sp. endófito se aisló del sector Challohuma de hoja del cafeto, que presentó una tasa de crecimiento en medio EMA 1.23cm y en medio PSA 0.94cm por día, la coloración de la colonia que se observó en medio EMA 7.5Y 6/8 y en PSA 5GY 4/4 en el anverso de la placa. Así también en sus características culturales presenta una elevación plana, una forma circular y borde filamentosa; también presenta tres anillos concéntricos bien definidos de coloración de verde en medio EMA. El tamaño de la conidia es de 2.85 μm en promedio (Tabla 5 y figura 24).

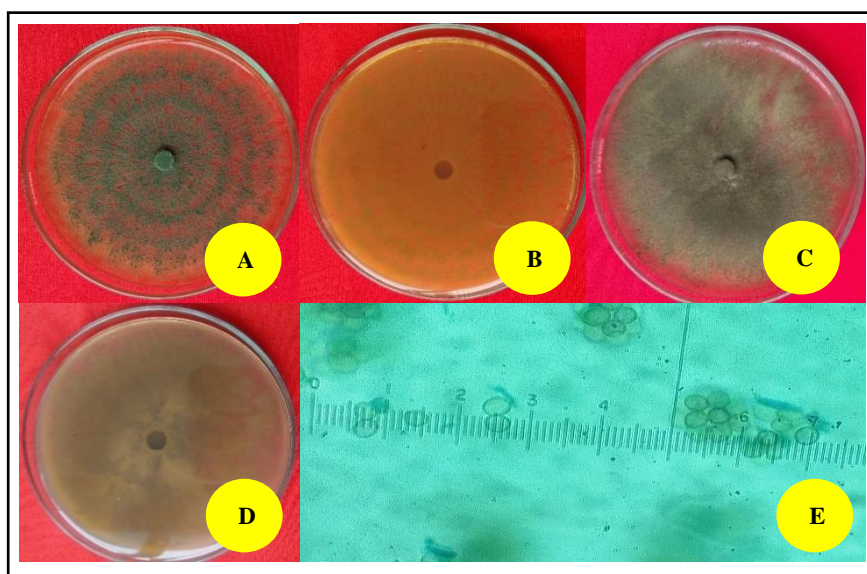


Figura 24. Características culturales y microscópicas del morfotipo 1 (T1). A. Anverso y B. Reverso de la colonia en medio EMA, C. Anverso y D. Reverso en medio PSA, E. Conidia.

b) Morfotipo 2 (T2)

Esta cepa de *Trichoderma* sp. endófito se aisló del sector Challohuma de hojas del cafeto, que presentó una tasa de crecimiento en medio EMA 1.33 cm y en medio PSA 1.15cm por día, la coloración de la colonia que se observó en medio EMA 2.5Y 5/4 y en PSA 2.5Y 5/6 en el anverso de la placa. Así también en sus características culturales presenta una elevación plana, una forma circular y borde filamentosa; también no se observa anillos definidos de coloración de verde en medio EMA. El tamaño de la conidia es de 2.989 μm en promedio (Tabla 5 y figura 25).

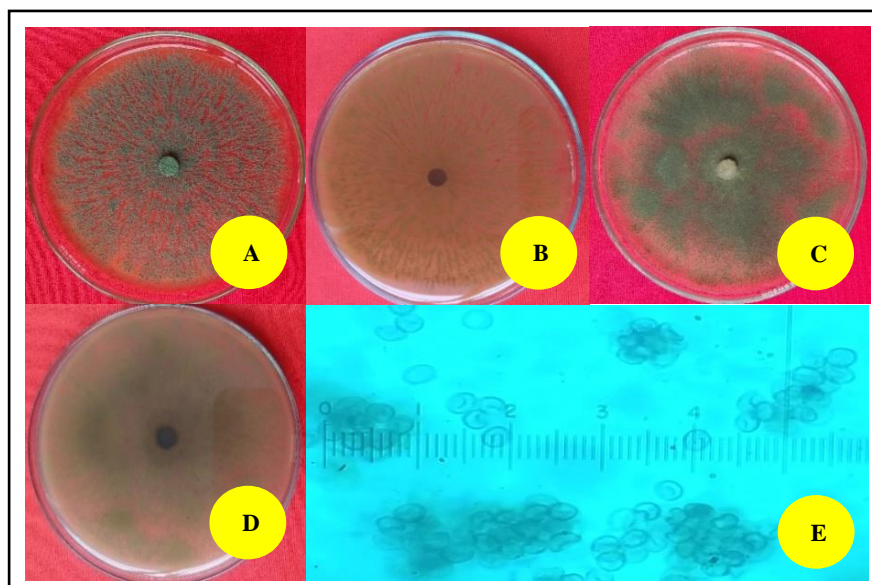


Figura 25. Características culturales y microscópicas del morfotipo 2 (T2). A. Anverso y B. Reverso de la colonia en medio EMA, C. Anverso y D. Reverso en medio PSA, E. Conidia.

c) Morfotipo 3 (T3)

Esta cepa de *Trichoderma* sp. endófito se aisló del sector Challohuma de tallo del cafeto, que presentó una tasa de crecimiento en medio EMA 2.38cm y en medio PSA 1.98cm por día, la coloración de la colonia que se observó en medio EMA 2.56Y 8/6 y en PSA 5.6Y 3/6 en el anverso de la placa. Así también en sus características culturales presenta una elevación plana, una forma circular y borde entero; también se observa un anillo bien definido de coloración verde en medio EMA. El tamaño de la conidia es de 3.0875 μm en promedio (Tabla 5 y figura 26).

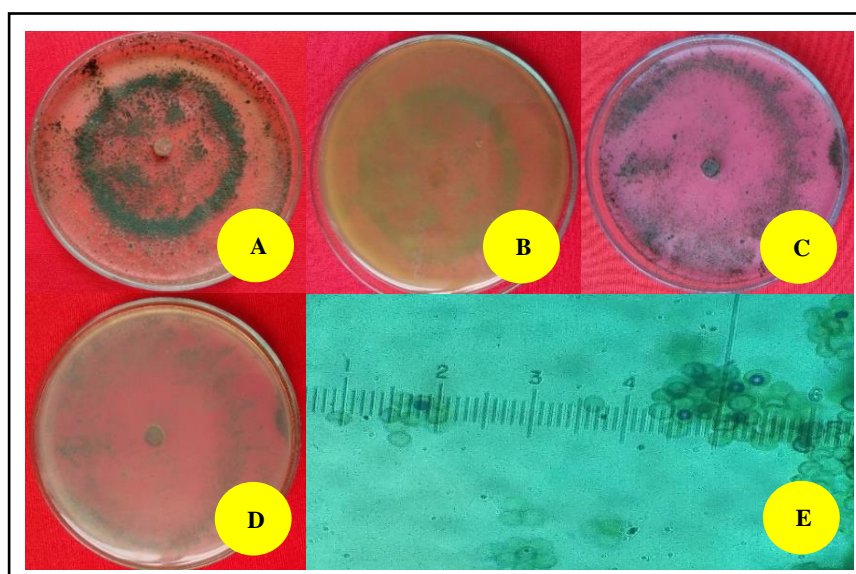


Figura 26. Características culturales y microscópicas del morfotipo 3 (T3). A. Anverso y B. Reverso de la colonia en medio EMA, C. Anverso y D. Reverso en medio PSA., E. Conidia.

d) Morfotipo 4 (T4)

Esta cepa de *Trichoderma* sp. endófito se aisló del sector Challohuma de tallo del café, que presentó una tasa de crecimiento en medio EMA 2.46cm y en medio PSA 1.93cm por día, la coloración de la colonia que se observó en medio EMA 5GY 8/4 y en PSA 5.6Y 6/3 en el anverso de la placa. Así también en sus características culturales presenta una elevación elevada, una forma circular y borde ondulado; también se observa dos anillos bien definidos de coloración verde en medio EMA. El tamaño de la conidia es de 3.75 μm en promedio (Tabla 5 y figura 27).

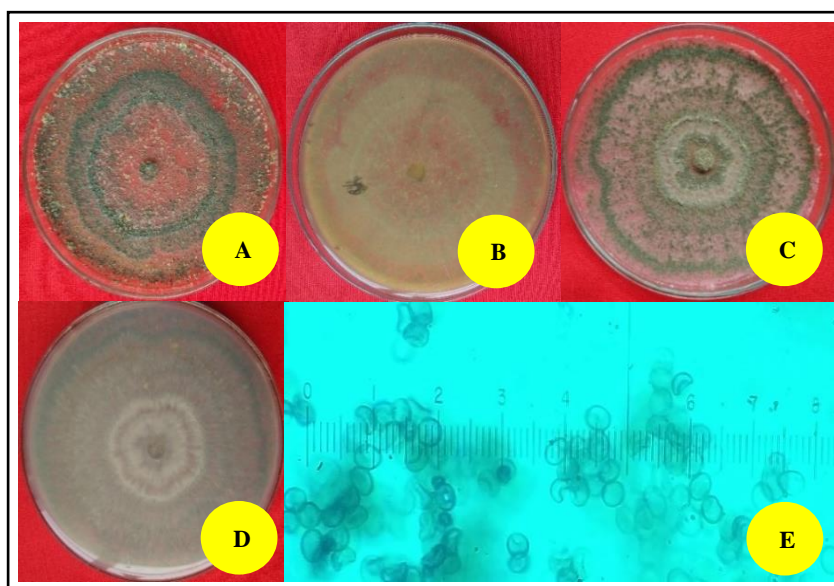


Figura 27. Características culturales y microscópicas del morfotipo 4 (T4). A. Anverso y B. reverso de la colonia en medio EMA, C. Anverso y D. Reverso de la colonia en medio PSA, E. Conidia.

e) Morfotipo 5 (T5)

Esta cepa de *Trichoderma* sp. endófito se aisló del sector Yurajmayo de tallo del café, que presentó una tasa de crecimiento en medio EMA 2.45cm y en medio PSA 1.20 cm por día, la coloración de la colonia que se observó en medio EMA 10Y 5/4 y en PSA 5.6Y 4/4 en el anverso de la placa. Así también en sus características culturales presenta una elevación plana, una forma circular y borde entero; también se observa dos anillos bien definidos de coloración verde en medio EMA. El tamaño de la conidia es de 3.56 μm en promedio (Tabla 5 y figura 28).

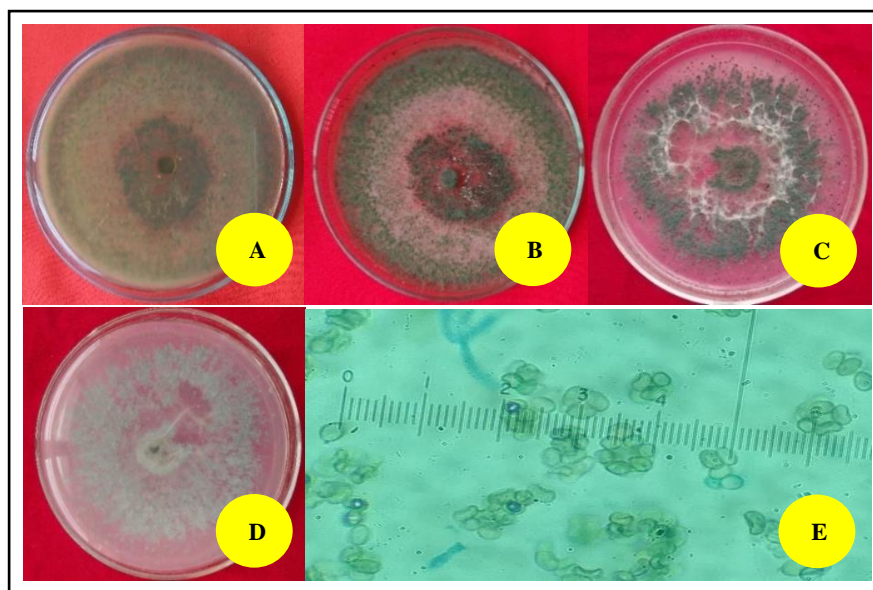


Figura 28. Características culturales y microscópicas del morfotipo 5 (T5). A. Anverso y B. Reverso de la colonia en medio EMA, C. Anverso y D. Reverso de la colonia en medio PSA., E. Conidia.

Los hongos aislados en este trabajo de investigación fueron también aislados en otros cultivos como lo señala Salgado *et.al.* (2005) en su investigación dentro de los cuales identificó *Nigrospora oryzae* y *Xylaria* sp que fueron los que presentaron mayor número de aislamientos en rosa (*Rosa hybrida*); sin embargo, Salas (2010) logró aislar una gran variedad de hongos endófitos y solo identificó *Cladosporium* sp. en hojas de café (*Coffea arabica* L.); de igual manera Gonzales (2015) aisló 11 cepas de hongos endófitos de hojas de *Piper aduncum* de los cuales solamente lo codificó ya que no fueron identificados.

Según Baralt (2012) reportó 98 aislados, la abundancia fue de 55 en frutos y 43 en hojas, los cuales representan una riqueza total de 17 especímenes, correspondiendo globalmente a 10 para cada órgano de origen. Identificó en total nueve géneros: *Colletotrichum* sp., *Cladosporium* sp., *Curvularia* sp., *Penicillium* sp., *Pestalotiopsis* sp., *Lasiodiplodia* sp., *Glomerella* sp., *Nigrospora* sp. y *Phomopsis* sp., una especie *Fusarium decemcellulare* y siete que no presentaron estructuras; también Ordoñez (2012) en orquídeas *Vanilla planifolia* que colectó raíces y logró aislar 55 hongos endófitos y los géneros que encontró corresponden a: *Bipolaris* sp., *Phoma* sp., *Phomopsis* sp., y *Trichoderma* sp., *Grammotetele* sp. además de un miembro de la familia Xylariaceae; así también Ramírez (2006) aisló hongos

endófitos de plantas medicinales y los principales fueron: *Mycelia sterilia* (micelios sin fructificaciones), *Alternaria*, algunos representantes de los coelomycetes y algunos hongos ambientales comunes (*Acremonium*, *Epicoccum*, *Fusarium*, *Phoma*. También Carbajal (2017) en su trabajo de investigación logró identificar a *Trichoderma* sp., *Aspergillus* sp., *Verticillium* sp., *Thielaviopsis* sp., *Scytalidium* sp., *Xylaria* sp., *Nigrospora* sp. y *Pestalotiopsis* sp., hongos endófitos encontrados de los tejidos sanos de las plantas de café variedad Catimor.

Rodríguez *et.al.*, (2011) a partir de hongos endófitos aislados de tallos y hojas de cacao logró caracterizar 68 aislamientos de los cuales formo ocho grandes grupos que corresponden a los géneros: *Trichoderma*, *Clonastachys*, *Botryosphaeria*, *Xylaria*, *Pestalotiopsis*, *Acremonium*, *Fusarium*, *Colletotrychum*. Esto concuerda con el resultado obtenido en este trabajo de investigación, por tanto, se indica que si hay presencia de hongos endófitos por lo cual se acepta la hipótesis específica planteada de que las hojas y tallos de cafeto tienen hongos endófitos en *Coffea arabica* L.

4.2. EFECTO DE HONGOS ENDÓFITOS ANTAGÓNICOS EN EL DESARROLLO DE PLANTONES DE CAFÉ (*Coffea arabica* L.) EN EL DISTRITO DE SAN JUAN DEL ORO

4.2.1. Altura de planta de cafeto

Tabla 6 en el análisis de varianza para altura de planta de cafeto en 3 evaluaciones (meses) con aplicación de cepas de *Trichoderma* sp. endófitos, muestra que existe diferencia estadística altamente significativa entre los tratamientos de todas las evaluaciones que se realizaron, lo cual indican que se tuvo diferentes alturas de planta por cada evaluación por efecto de las distintas cepas. Los coeficientes de variación (CV) para cada evaluación que se realizó nos indica la confiabilidad de los datos logrados en el presente trabajo.

Tabla 6. Análisis de varianza para altura de planta de cafeto en 3 evaluaciones (meses) con aplicación de cepas de *Trichoderma* sp. endófitos.

Fuente de variación	Grados de libertad	1 ^{ra} evaluación (Mes 1)	2 ^{da} evaluación (Mes 2)	3 ^{ra} evaluación (Mes 3)
Trat.	5	**	**	**
Error	24			
Total	29			
R-cuadrado		0.50	0.64	0.71
CV		5.91%	5.73%	5.35%

N.S.=no significativo.

**=Altamente significativo.

*=Significativo

CV=Coeficiente de variabilidad

Tabla 7 en la prueba de comparación de medias de Duncan para altura de plántones de cafeto (cm) para las tres evaluaciones con aplicación de cepas de *Trichoderma* sp. endófito hay diferencias en altura de planta en cada evaluación realizada. En la 1^{ra}, 2^{da} y 3^{ra} evaluación se obtuvo que el tratamiento T1 muestra la mayor altura de planta con 9.42; 11.08 y 12.7 cm respectivamente, seguido del tratamiento T2 que muestra en la 1^{ra}, 2^{da} y 3^{ra} evaluación con 8.88; 10.92 y 12.1 cm y en último lugar se ubica el testigo que solo tuvo 10.02 cm de altura de planta al final de la evaluación (Figura 29 y 30).

Tabla 7. Prueba de comparación de medias de Duncan para altura de plántones de cafeto (cm) para las tres evaluaciones con aplicación de cepas de *Trichoderma* sp. endófito.

Trat.	1 ^{ra} evaluación (mes 1)		2 ^{da} evaluación (mes 2)		3 ^{ra} evaluación (mes 3)	
T1	9.42	a	11.08	a	12.70	a
T2	8.88	ab	10.92	ab	12.10	ab
T3	8.50	bc	9.58	cd	10.94	c
T4	9.04	ab	10.62	ab	11.42	bc
T5	8.52	bc	10.14	bc	11.64	b
Testigo	7.96	c	9.18	d	10.02	d

Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$).

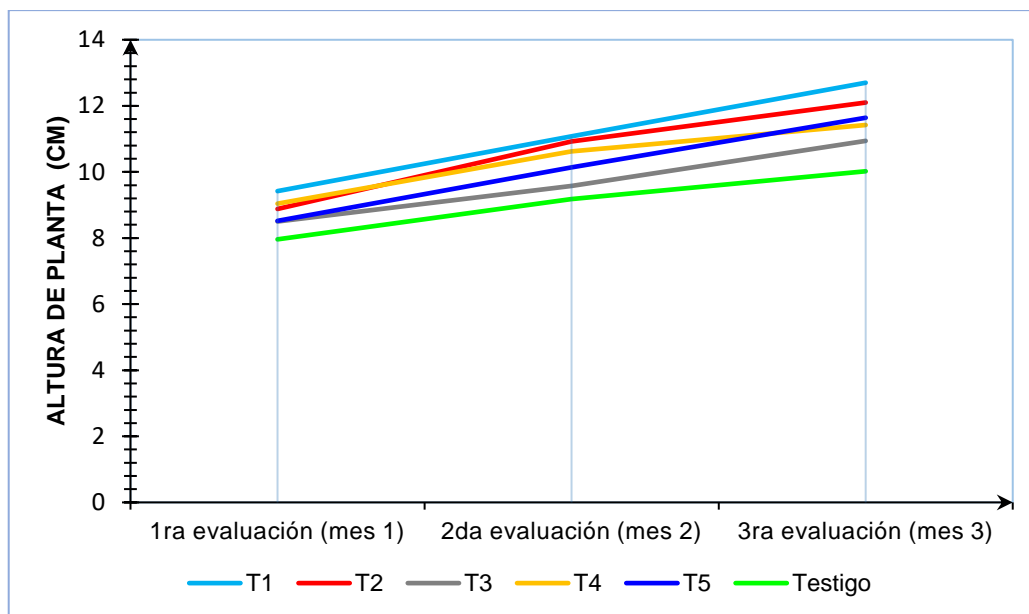


Figura 29. Altura de planta en plántones de café con aplicación de cepas *Trichoderma* sp. endófito en tres aplicaciones (3 meses).



Figura 30 . Comparación de altura de plántones de café después de la última aplicación de las cinco cepas de *Trichoderma* sp. a nivel de vivero en distrito de San Juan del Oro.

4.2.2. Diámetro de tallo de plántones de café

Análisis de varianza para diámetro de tallo muestra, que existe diferencia estadística altamente significativa para los tratamientos ($p < 0.01$), lo cual indica que se tuvo diferentes diámetros de tallo por cada evaluación por efecto de la aplicación de cepas de *Trichoderma* sp endófito. Los coeficientes de variación (CV) son aceptables por cada evaluación realizada (Tabla 8).

Tabla 8. Análisis de varianza para diámetro de tallo de plántulas de café en 3 evaluaciones (meses) con aplicación de cepas de *Trichoderma* sp. endófito.

Fuente de variación	Grados de libertad	1 ^{ra} evaluación (Mes 1)	2 ^{da} evaluación (Mes 2)	3 ^{ra} evaluación (Mes 3)
Trat.	5	**	**	**
Error	24			
Total	29			
R-cuadrado		0.58	0.604	0.651
CV		6.49	5.720	6.028

N.S.=no significativo.

**=Altamente significativo.

*=Significativo

CV =Coeficiente de variabilidad

En la tabla 9 de la prueba de comparación de medias de Duncan para diámetro de tallo en mm de plántulas de café para las tres evaluaciones con aplicación de cepas de *Trichoderma* sp. endófito, se observa que hubo diferencias en diámetro de tallo por cada tratamiento en cada evaluación realizada. En la 3^{ra} evaluación se observa que el T1, obtuvo el mayor diámetro de tallo con 2.5 mm en promedio, seguido del T2 con 2.276 mm, en último lugar se ubica el testigo que solo tuvo 1.964 mm en promedio (Figura 31).

Tabla 9. Prueba de comparación de medias de Duncan para diámetro de tallo en mm de plántulas de café para las tres evaluaciones con aplicación de cepas de *Trichoderma* sp. endófito.

Tratamiento	1 ^{ra} evaluación (mes 1)	2 ^{da} evaluación (mes 2)	3 ^{ra} evaluación (mes 3)
T1	2.080 a	2.228 a	2.500 a
T2	2.076 a	2.188 ab	2.276 b
T3	1.864 b	2.012 c	2.124 bc
T4	1.948 ab	2.056 bc	2.168 b
T5	1.976 ab	2.116 abc	2.252 b
Testigo	1.696 c	1.828 d	1.964 c

Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$).

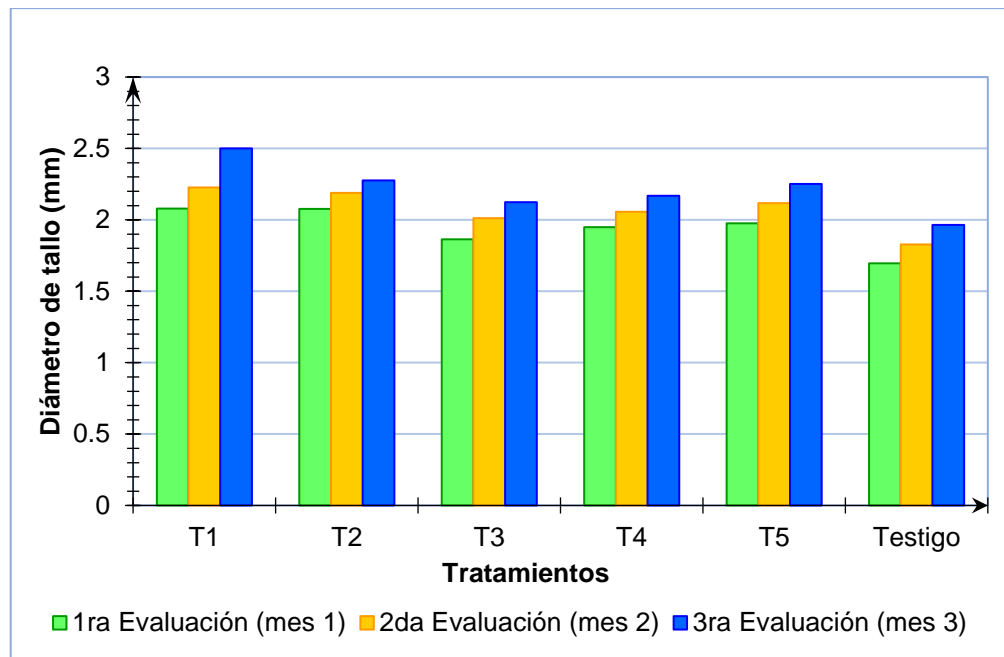


Figura 31. Diámetro de tallo de plántones de café después de la aplicación de cepas de *Trichoderma* sp. endófito.

4.2.3. Longitud de la raíz principal de plántones de café

En la tabla 10 del Análisis de varianza de longitud de raíz principal (cm) de plántones de café con aplicación de cepas de *Trichoderma* sp. endófito al tercer mes, muestra que existe diferencia estadística altamente significativa para los tratamientos. El coeficiente de variación (CV) es de 8.237% aceptable, ya que Vásquez (2013), indica que bajo invernadero se pueden tener CV hasta un 20%.

Tabla 10. Análisis de varianza de longitud de raíz principal de plántones de café con aplicación de cepas de *Trichoderma* sp. endófito al tercer mes.

Fuente de variación	Grados libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Fcal	Ftab		Sig.
					0.05	0.01	
Tratamiento	5	132.599	26.52	63.42	2.62	3.9	**
Error	24	10.036	0.418				
Total	29	142.635					

CV= 8.237%

N.S.=no significativo.

CV=Coeficiente de variabilidad

**=Altamente significativo.

R-cuadrado=0.929

*=Significativo

En la tabla 11 de la prueba de comparación de medias de Duncan para longitud de raíz principal (cm) de plántones de café al tercer mes con aplicación de cepas de

Trichoderma sp. endófito, hubo diferencias significativas en longitud de raíz principal por cada tratamiento en la evaluación realizada. Se observa que el T1 obtuvo la mayor longitud de raíz principal con 11.38 cm en promedio, seguido de las cepas T2 que ocupó el segundo lugar y T5 el tercer lugar con longitud de raíz principal de 9.5 y 8.1 cm en promedio respectivamente, en último lugar se ubica el testigo que solo obtuvo 5.06 cm de longitud de raíz principal en promedio (Figura 32 y 33).

Tabla 11. Prueba de comparación de medias de Duncan para longitud de raíz principal (cm) de plántulas de café al tercer mes con aplicación de cepas de *Trichoderma* sp. endófito.

Tratamiento	Media	Duncan Agrupamiento
T1	11.38	a
T2	9.5	b
T5	8.1	c
T3	6.58	d
T4	6.48	d
TESTIGO	5.06	e

Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$).

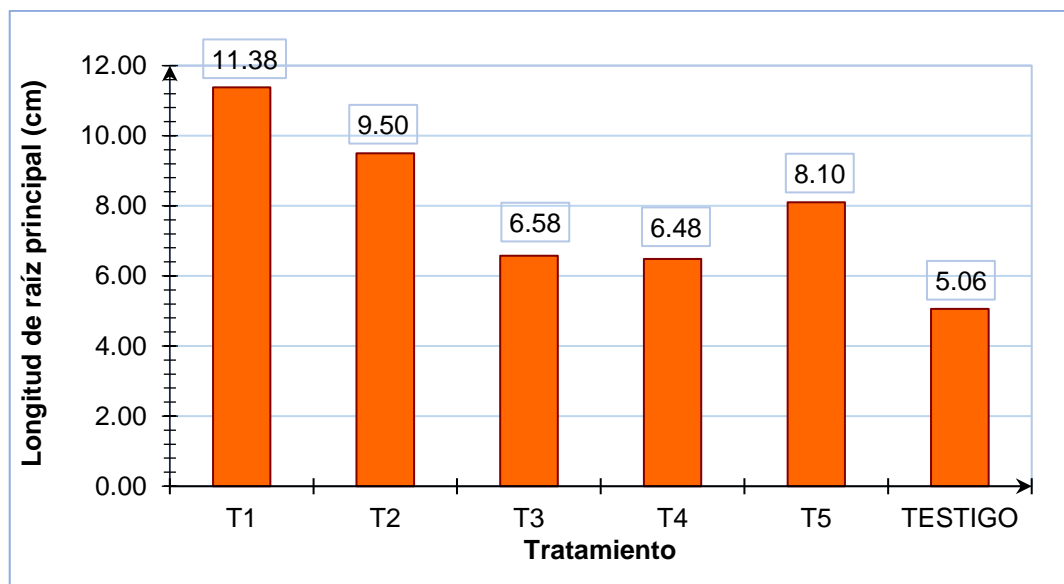


Figura 32. Longitud de la raíz principal de plántulas de café después de la aplicación de cepas de *Trichoderma* sp. endófito al tercer mes.



Figura 33. Comparación de longitud de raíz de los distintos tratamientos de cinco cepas de *Trichoderma* sp. endófito en plántulas de café a nivel de vivero al tercer mes.

4.2.4. Número de hojas (unidad)

Realizado el análisis de varianza para el número de hojas existe diferencia estadística altamente significativa para cada tratamiento de cepas de *Trichoderma* sp. endófito en el tercer mes de evaluación, lo cual indica que se tuvo diferentes cantidades en número de hojas por cada tratamiento, por efecto de las distintas cepas de hongos endófitos de *Trichoderma* sp. aislados del cultivo de café. El coeficiente de variabilidad es de 10.645% que son aceptables, puesto que Vásquez (2013) indica que este C.V. es aceptable en condiciones de vivero (tabla 12).

Tabla 12. Análisis de varianza para número de hojas de los plantones de café con aplicación de cepas de *Trichoderma* sp. endófito al tercer mes.

Fuente de variación	Grados libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Fcal	Ftab		Sig.
					0.05	0.01	
Trat.	5	1.510	0.302	9.01	2.62	3.9	**
Error	24	0.804	0.033				
Total	29	2.315					

CV= 10.645%

N.S.=no significativo.

CV=Coefficiente de variabilidad.

**=Altamente significativo.

R cuadrado=0.652

*=Significativo.

En la tabla 13 en la prueba de comparación de medias de Duncan para número de hojas (unidad) al tercer mes con aplicación de cepas de *Trichoderma* sp. endófito, muestra que presenta diferencia altamente significativa en todos los tratamientos, pero los tratamientos T1 y T2 son superiores, ya que presentan mayor efecto en el número de hojas por lo que se estima que estos tratamientos son superiores seguido del T5, T4 y T3, siendo el T5 para ser utilizado como una alternativa en el

efecto de número de hojas a comparación del testigo que presentó menor número de hojas (Figura 34).

Tabla 13. Prueba de comparación de medias de Duncan para número de hojas (unidad) al tercer mes con aplicación de cepas de *Trichoderma* sp. endófito.

Tratamiento	Media	Media Transf.	Duncan Agrupamiento
T1	7.6	2.02	a
T2	7.2	1.96	ab
T5	6.0	1.77	bc
T4	5.2	1.63	cd
T3	4.8	1.55	cd
Testigo	4.0	1.39	d

Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$).

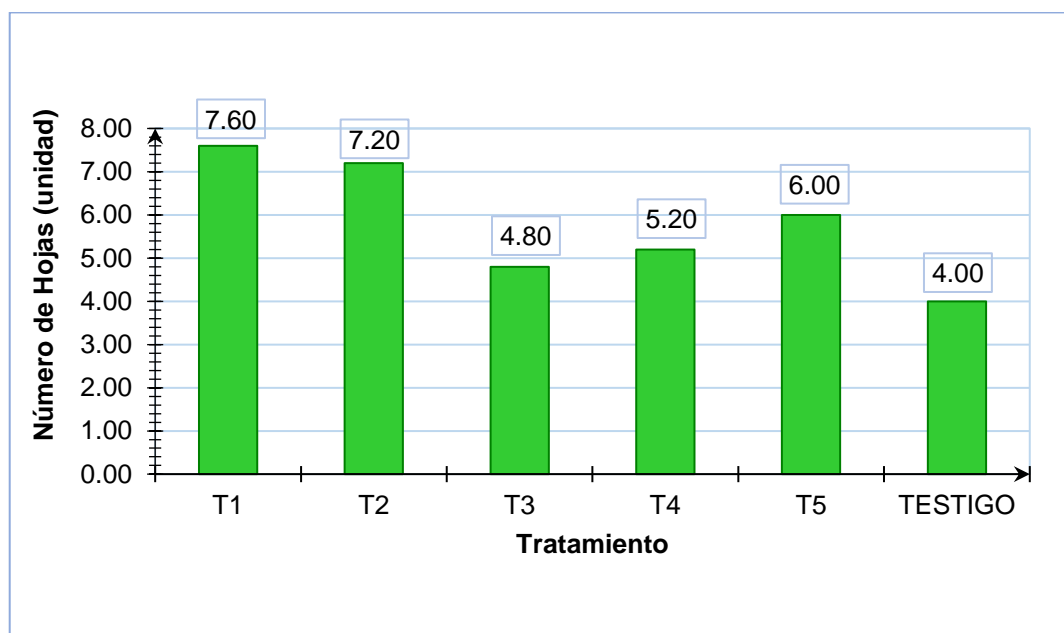


Figura 34. Número de hojas de plántulas de café con aplicación de cinco cepas de *Trichoderma* sp. endófito al tercer mes.

Según Carbajal (2017) en su trabajo de investigación en plántulas de café inoculadas con *Trichoderma* sp obtuvo el mayor promedio de número de hojas y área foliar con 11,3 hojas y 79,34 cm respectivamente. Estos datos concuerdan con los datos obtenidos por Camargo, (2013) que destaca la diferencia existente en el área foliar de las plantas sometidas a *Trichoderma* sp. en el T11, que aumentó en 45% respecto al testigo en *Pisum sativum* L.

Según Guilcapi, (2009) en su trabajo de investigación concluye que con la aplicación de *Trichoderma harzianum* en la producción de plantas de café a nivel de vivero, obtuvo mayor longitud radicular, altura, diámetro de tallo, número de hojas tanto a los 30, 60 y 90 días después del repique. Por tanto, Acurio (2016) señala que las cepas de *Trichoderma promueven* el crecimiento radicular en pasturas de raygrass y trébol blanco.

Lu *et al.* (2000) señala que la mejora del crecimiento de la planta puede estar influenciada por compuestos como fitohormonas producidas por hongos endófitos. *Colletotrichum* sp., un hongo endófito en *Artemisia annua* que produce sustancias como el ácido indol acético (AIA) para regular los procesos de las plantas. Así también Dai *et.al.* (2008) en una previa investigación indicaron que *Fusarium* sp. E5 extrae funciones como una auxina. El mecanismo de hongos endófito estimulando el crecimiento del hospedante puede ser atribuido al efecto de las fitohormonas producidas por hongos endófitos lo cual concuerda con Castro *et.al.* (2102) confirma que *Trichoderma spp.* como otros mecanismos de acción tiene también propiedades como promotor del desarrollo vegetativo ya que en raíces colonizadas por *Trichoderma* spp. frecuentemente aumentan el crecimiento, productividad del cultivo, resistencia a estrés abiótico e incremento en la toma y uso de nutrientes.

Se ha demostrado que la productividad de un cultivo en el campo puede incrementarse en más del 300% después de la aplicación de *T. hamatum* o *T. koningii*. Diferentes especies del género *Trichoderma* producen factores de crecimiento, los cuales han sido detectados e identificados en el laboratorio, como son las auxinas, citoquininas y etileno. También se ha descrito la producción de fitohormonas, tales como indol, ácido acético y etileno. Por otra parte, *Trichoderma* spp. produce moléculas de citoquininas y giberelinas GA3, involucradas en eventos de estimulación de crecimiento y desarrollo de las plantas. En adición a las características anteriormente mencionadas, *Trichoderma* tiene la capacidad de acidificar el entorno en que se encuentra por la secreción de ácidos orgánicos como ácido glucánico, cítrico y fumárico. Estos ácidos orgánicos resultan del metabolismo de otras fuentes de carbono, principalmente glucosa, trayendo consigo la solubilización de fosfatos, micronutrientes y minerales incluyendo el hierro, magnesio.

4.3. DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD BIOCONTROLADORA DE LOS HONGOS ENDÓFITOS ANTAGÓNICOS HACIA LA ROYA DEL CAFÉ (*Hemileia vastatrix* Berk. & Br.) EN EL DISTRITO DE SAN JUAN DEL ORO

4.3.1. Incidencia de la roya amarilla

La tabla 14 en el análisis de varianza para incidencia de la roya amarilla del cafeto con aplicación de cepas de *Trichoderma* sp. endófito, corresponde desde la primera evaluación hasta la quinta evaluación, se observa que existe diferencia altamente significativa en las evaluaciones realizadas para los 7 tratamientos ($p < 0.01$); el coeficiente de variabilidad oscila entre el 21.23% y 10.42% lo cual es un rango aceptable estadísticamente en trabajos de campo, debido a variables no medibles en este estudio y fluctuaciones de factores abióticos.

Tabla 14. Análisis de varianza para incidencia de la roya amarilla del cafeto con aplicación de cepas de *Trichoderma* sp. endófito.

Fuente de variación	Grados de libertad	1 ^{ra} evaluación (Día 117)	2 ^{da} evaluación (Día 122)	3 ^{ra} evaluación (Día 127)	4 ^{ta} evaluación (Día 132)	5 ^{ta} evaluación (Día 137)
Trat.	6	**	**	**	**	**
Error	28					
Total	34					
R-cuadrado		0.719	0.713	0.777	0.808	0.874
CV		21.230%	19.460%	14.660%	14.060%	10.420%

N.S.=no significativo.

**=Altamente significativo.

*=Significativo.

CV=Coeficiente de variabilidad.

En la tabla 15 de la prueba de comparación de medias de Duncan muestra la incidencia de la roya amarilla en plantones de cafeto para las cinco evaluaciones con aplicación de cepas de *Trichoderma* sp. endófito, se encontró que de las 5 evaluaciones realizadas el porcentaje de incidencia es menor en comparación al testigo enfermo (Tenf), asimismo el T1 y T2 de las evaluaciones no presentan diferencia significativa en la 1^{ra} evaluación, por el contrario las evaluaciones 2^{da}, 3^{ra}, 4^{ta}, y 5^{ta} presentan diferencia significativas, por lo tanto para todas las evaluaciones el T1 y T2 son superiores a los demás tratamientos, por lo que se estima que estos son mejores a los demás por presentar menor porcentaje de incidencia a diferencia

de los tratamientos T3,T4,T5 que no fueron eficientes , siendo el testigo absoluto (Tabs) que no se registró nada y descartando el Tratamiento enfermo (Tenf) porque presentó mayor porcentaje de incidencia de la enfermedad.

Tabla 15. Prueba de comparación de medias de Duncan para incidencia de la roya amarilla en plántones de café para las cinco evaluaciones con aplicación de cepas de *Trichoderma* sp. endófito.

Trat.	1 ^{ra} evaluación		2 ^{da} evaluación		3 ^{ra} evaluación		4 ^{ta} evaluación		5 ^{ta} evaluación	
T1	0	c	5.00	bc	17.50	c	24.99	b	35.80	c
T2	0	c	10.00	b	22.50	bc	27.50	b	42.50	c
T3	10.00	b	28.33	a	40.83	a	61.67	a	73.33	ab
T4	12.50	b	31.67	a	43.33	a	56.67	a	70.00	b
T5	11.67	b	26.67	a	35.83	ab	53.33	a	64.17	b
Tenf	36.67	a	50.00	a	65.00	a	86.66	a	96.67	a
Tab	0	c	0	c	0	d	0	c	0	d

Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$).

En la figura 35 muestra el porcentaje de incidencia de la roya amarilla (*Hemileia vastatrix*) en plántones de café en comparación al testigo, .En las cinco evaluaciones se muestra que los tratamientos T1, T2 presentan menor porcentaje de incidencia en comparación al testigo y en las 5 evaluaciones, seguida del T5, a comparación del T3 y T4 que no fueron eficientes para el control de la enfermedad a diferencia del Tratamiento enfermo (Tenf) que muestra mayor porcentaje de incidencia de la enfermedad al culminar la evaluación.

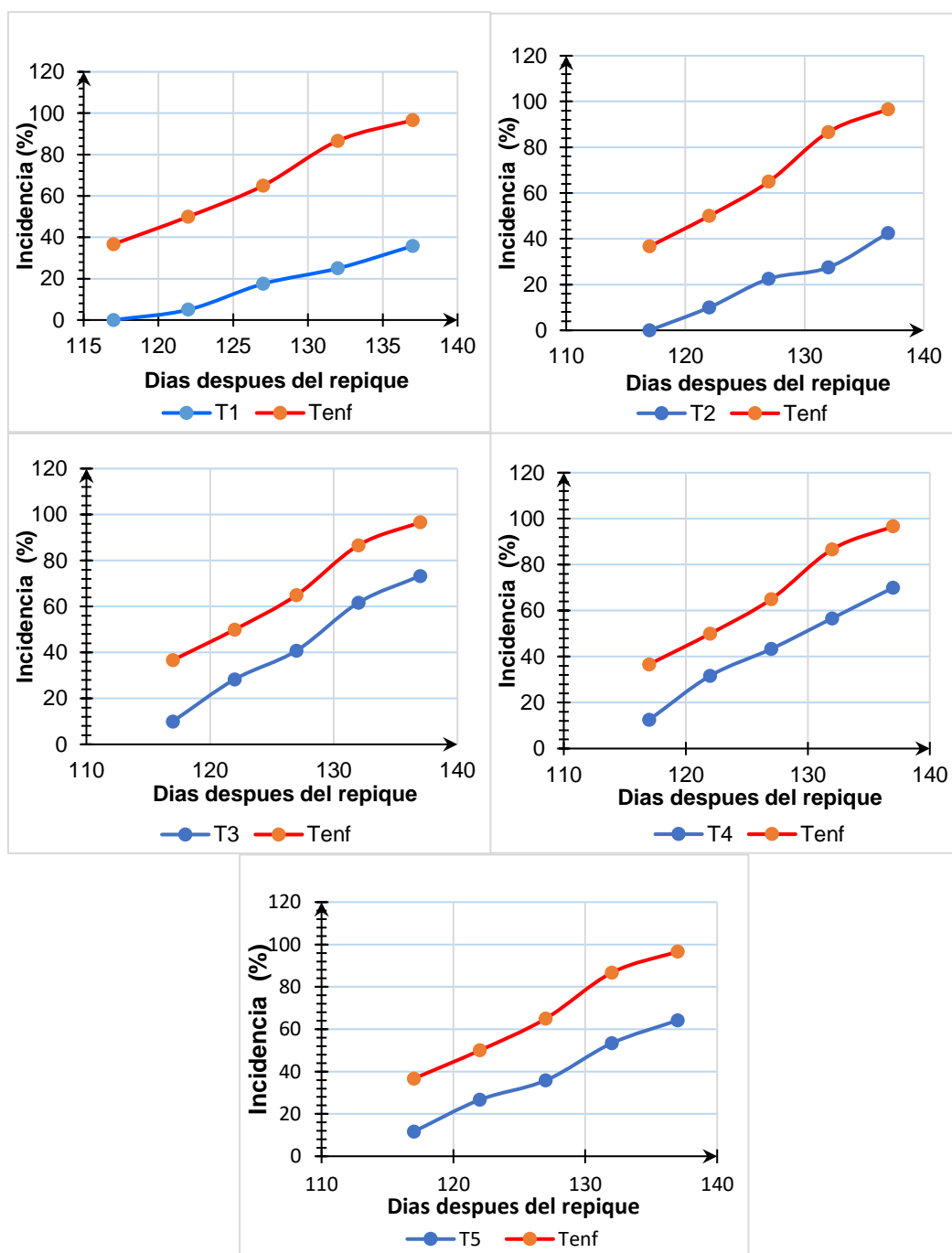


Figura 35. Porcentaje de incidencia de la roya amarilla (*Hemileia vastatrix*) en plántones de café en comparación al testigo.

4.3.2. Severidad de la roya amarilla del cafeto

En la tabla 16 del análisis de severidad de la roya amarilla en plantones de cafeto con aplicación de cepas de *Trichoderma* sp. endófito para las cinco evaluaciones muestra la severidad de la roya amarilla correspondiente desde la primera evaluación hasta la quinta evaluación, se observa que existe diferencia altamente significativa, el coeficiente de variabilidad estuvo entre el 14.10 y 7.03%, lo cual es un rango aceptable estadísticamente en trabajos de campo debido a variables no medibles en este estudio y fluctuaciones de factores abióticos.

Tabla 16. Análisis de severidad de la roya amarilla en plantones de cafeto con aplicación de cepas de *Trichoderma* sp. endófito para las cinco evaluaciones.

Fuente de variación	Grados de libertad	1 ^{ra} evaluación (Día 117)	2 ^{da} evaluación (Día 122)	3 ^{ra} evaluación (Día 127)	4 ^{ta} evaluación (Día 132)	5 ^{ta} evaluación (Día 137)
Trat.	6	**	**	**	**	**
Error	28					
Total	34					
R-cuadrado		0.636	0.858	0.810	0.740	0.790
CV		7.030%	7.240%	10.430%	14.100%	13.080%

N.S.=no significativo.

**=Altamente significativo.

*=Significativo.

CV=Coeficiente de variabilidad.

En la tabla 17 muestra la prueba de comparación de medias de Duncan para porcentaje de severidad de la roya amarilla (*Hemileia vastatrix*) en plantones de cafeto para las cinco evaluaciones con aplicación de cepas de *Trichoderma* sp. endófito, se encontró que los tratamientos T1 y T2 de la 1^{ra} y 2^{da} evaluación no presentaron diferencia significativa por el contrario la 3^{ra}, 4^{ta}, 5^{ta} evaluaciones presentan diferencias significativas, por lo tanto, los tratamientos T1 y T2 de las cinco evaluaciones son superiores a los demás tratamientos, por lo que se estima que son mejores con respecto a los tratamientos T3, T4, T5 que pueden sustituir a los T1 y T2 para el control de esta enfermedad, descartando el Tenf. (testigo enfermo) que presentó mayor porcentaje de la enfermedad.

Tabla 17. Prueba de comparación de medias de Duncan para porcentaje de severidad de la roya amarilla (*Hemileia vastatrix*) en plántones de café para las cinco evaluaciones con aplicación de cepas de *Trichoderma* sp. endófito.

Trat.	1 ^{ra} evaluación		2 ^{da} evaluación		3 ^{ra} evaluación		4 ^{ta} evaluación		5 ^{ta} evaluación	
T1	0.3	cd	1.2	c	1.2	c	4.10	d	8.95	c
T2	0.3	cd	1.2	c	1.5	c	4.70	cd	10.3	c
T3	1.5	bc	2.1	b	4.7	b	11.25	bc	23.3	b
T4	1.2	bc	2.7	b	5.0	b	10.25	bc	22.0	b
T5	1.2	bc	2.7	b	6.0	b	12.25	b	14.3	bc
Tenf	3.0	a	10.0	a	15.3	a	26.50	a	39.5	a
Tabs	0	d	0	d	0	c	0.00	e	0.0	d

Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$).

En la figura 36 muestra el porcentaje de severidad de la roya amarilla del café en plántones en comparación al testigo, muestra el porcentaje de la roya amarilla de los tratamientos T1, T2, T3, T4 y T5 comparando con el testigo enfermo. En las cinco evaluaciones se muestra que los tratamientos T1, T2 presentan menor porcentaje de severidad y se estima que son mejores controladores de la roya en las 5 evaluaciones, seguida del T5, a comparación del T3 y T4 que no fueron eficientes para el control de la enfermedad a diferencia del Tenf (Testigo enfermo) que muestra mayor porcentaje de severidad de la enfermedad al culminar la evaluación (figura 37).

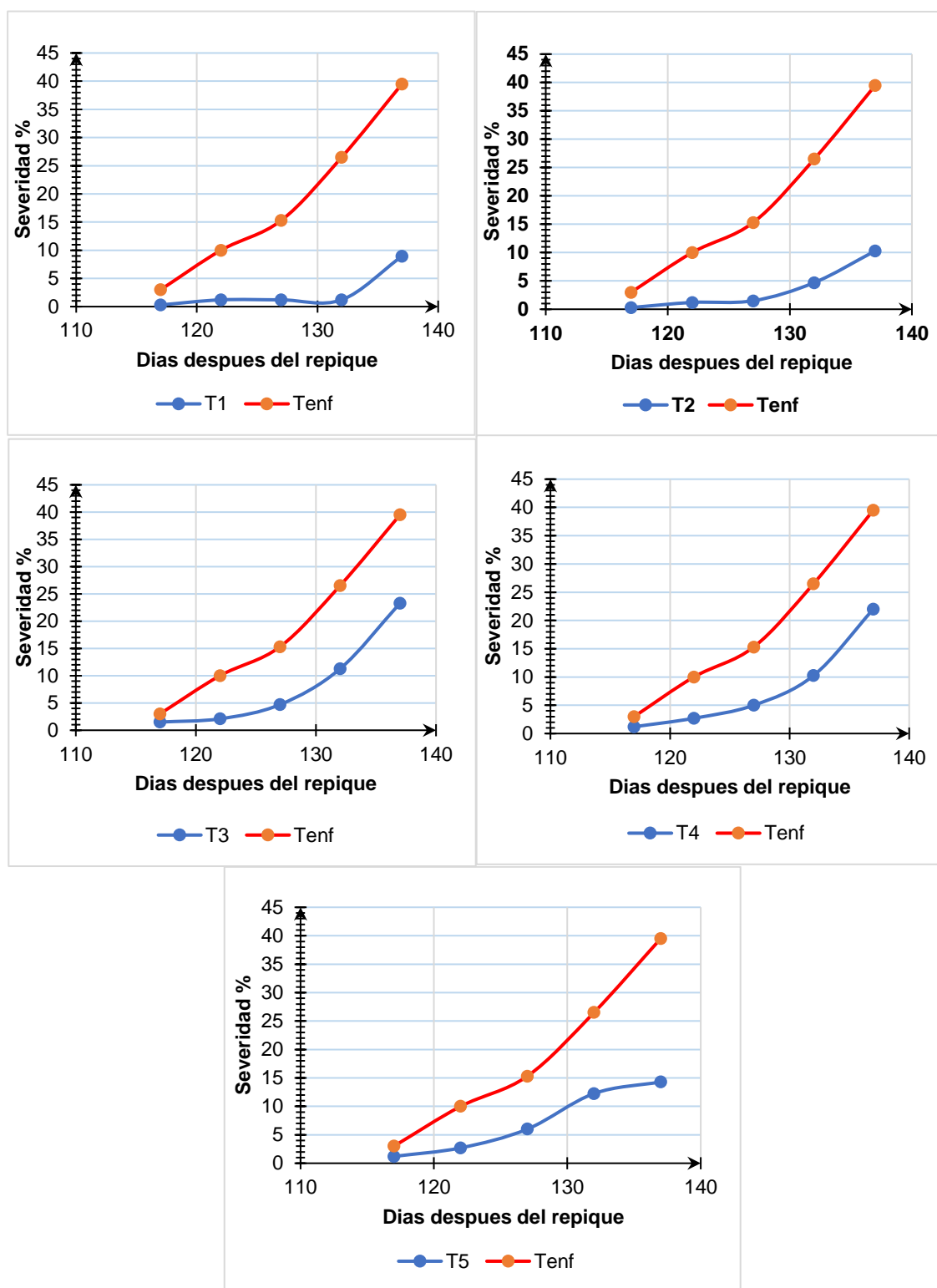


Figura 36. Porcentaje de severidad de la roya amarilla (*Hemileia vastatrix*) del cafeto en plantones de cafeto en comparación al testigo.



Figura 37. Muestra del porcentaje de severidad de la roya amarilla (*Hemileia vastatrix*) en plántulas de cafeto a nivel de vivero.

4.3.3. Área bajo la curva del progreso de la enfermedad (AUDPC)

En la tabla 18 en el análisis de varianza para la variable área bajo la curva del progreso de la enfermedad de la severidad de la roya amarilla (*Hemileia vastatrix*) del cafeto a nivel de vivero, correspondiente desde la primera evaluación hasta la quinta evaluación, se observa que existe diferencia altamente significativa para los tratamientos; el coeficiente de variabilidad es de 14.184 %, lo cual es un rango aceptable estadísticamente en trabajos a nivel de vivero debido a variables no medibles en este estudio y fluctuaciones de factores abióticos.

Tabla 18. Análisis de varianza para la variable área bajo la curva del progreso de la enfermedad de la severidad de la roya amarilla (*Hemileia vastatrix*) del café a nivel de vivero.

Fuente	Grados libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Cal	F-tab		Sig.
					0.05	0.01	
Trat.	5	16.213	3.242	7.31	2.62	3.20	**
Error	24	10.639	0.443				
Total	29	26.852					

CV= 14.184%

N.S.=no significativo.

CV=Coeficiente de variabilidad.

**=Altamente significativo.

R-cuadrado=0.603.

*=Significativo.

En la tabla 19 del área bajo la curva del progreso de la enfermedad por tratamiento de las cinco evaluaciones con datos severidad de la roya amarilla del café, obtenidos en base a los datos de porcentaje severidad. Se observa que el tratamiento que tuvo menor acumulación de tejido afectado fue el T1 con 56.625 unidades, y el tratamiento más susceptible al ataque de *Hemileia vastatrix* Berk. & Br. es el Testigo con 365 unidades de enfermedad acumulada (Figura 38).

Tabla 19. Área bajo la curva del progreso de la enfermedad por tratamiento de las cinco evaluaciones con datos severidad de la roya amarilla del café.

Trat.	AUDPC	DUNCAN Agrupamiento
T1	56.625	c
T2	63.375	bc
T3	152.130	b
T4	147.750	b
T5	143.380	b
Tenf	365.000	a

Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$).

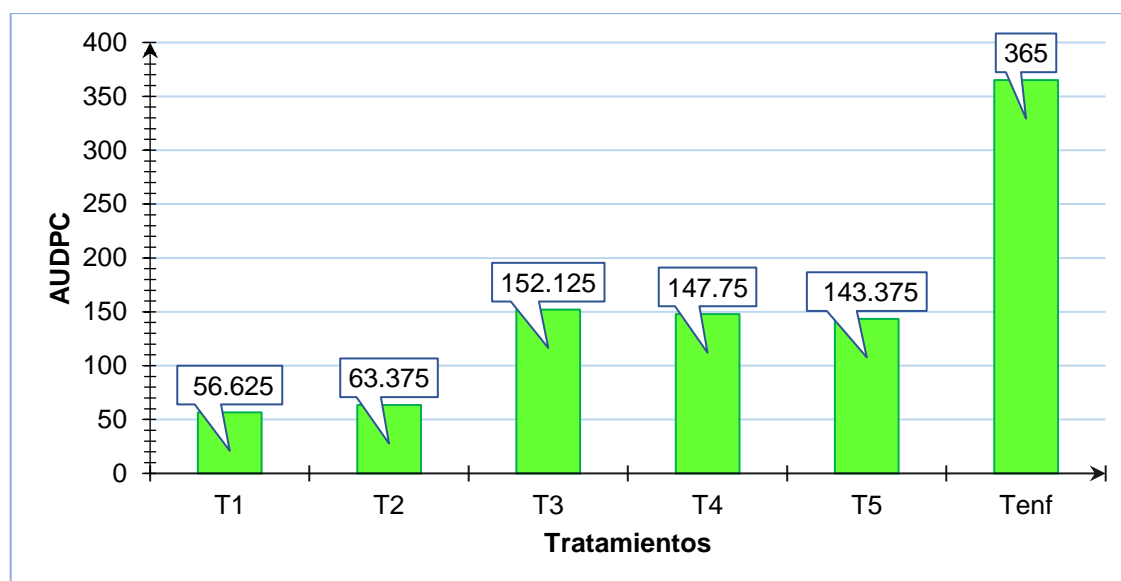


Figura 38. Representación gráfica de la Área Bajo la Curva del Progreso de la Enfermedad (AUDPC) de la severidad en plántulas de cafeto a nivel de vivero, como efecto de las cinco cepas de *Trichoderma* sp. endófito para el control de *Hemileia vastatrix* Berk. & Br. del cafeto.

En investigaciones recientes según Roiz *et.al.* (2013) en su estudio encontró un posible antagonismo de cepas *Trichoderma* sobre *Hemileia vastatrix* como resultado de una invasión del micelio de *Trichoderma* sobre el patógeno en la lesión de la hoja. Así también indica que el ataque de *Trichoderma* sobre *H. vastatrix* en las hojas de un árbol en el cafetal puede ser diferente al parasitismo clásico, por ejemplo, es una competencia por sitios o por nutrientes existentes sobre la hoja; o también que *Trichoderma* induzca resistencia en la planta a la infección.

En investigaciones con aplicación de *Trichoderma spp.* menciona Carhuavilca (2011) los parámetros que evaluó en su experimento fueron la incidencia y severidad; los resultados obtenidos después de 4 meses de evaluación de campo fueron: en incidencia el tratamiento que mostró un menor incremento de la incidencia de ojo de pollo es el *Trichoderma viride* con 5.88% en comparación a los demás tratamientos. En cuanto a la severidad del ojo de pollo el Testigo con Caldo Bordalés presentó una reducción de la severidad de 57.22%, la Combinación de *Trichoderma harzianum* y *Trichoderma viride* mostraron una reducción de 35.62%; en comparación a la severidad inicial de *Mycena citricolor* en la parcela demostrativa. Lo contrario a lo que sucedió con los tratamientos *Trichoderma harzianum* y *Trichoderma viride* que incrementaron la severidad en 10.76% y 11.46% respectivamente.

Así también Barreto *et.al.* (2017) en aislados de *Trichoderma* endófitos fueron obtenidos de *Coffea* en flores y cultivos seminaturales en África. Estudios preliminares están siendo conducidos en laboratorios y los resultados promisorios obtenidos para inhibición de la germinación de uredinosporas de *H. vastatrix* y reducción de la severidad de la enfermedad y son discutidas como su potencial para el uso en el control biológico clásico de roya de café o para desarrollo de biofungicidas.

Así mismo Vélez (1995) en sus resultados concluye que el cultivo licuado de *Verticillium lecanii* Cen 004 causo mayor reducción en el grado de infección por roya que las formulaciones comerciales y actuó como protector de la enfermedad, prolongando la ocurrencia del periodo de incubación en condiciones de invernadero y en cuanto la respuesta del hongo en condiciones de campo, el cultivo licuado de *Verticillium lecanii* Cen 004 no evito la aparición de la enfermedad pero redujo el número de lesiones en café.

Castro *et.al.* (2012) menciona la habilidad de diferentes especies de *Trichoderma* que protege las plantas contra patógenos radicales ha sido atribuida a un efecto antagónico contra la invasión del patógeno. Sin embargo, las asociaciones hongo-raíz también estimulan los mecanismos de defensa de las plantas. *Trichoderma* ejerce una protección a las plantas frente a patógenos que producen daños radicales y aéreos, inclusive infecciones virales. Estos mecanismos de inducción de resistencia son similares a la respuesta hipersensitiva, resistencia sistémica adquirida y resistencia sistémica inducida "RSI" en plantas. A nivel molecular, la resistencia resulta en un incremento de la concentración de metabolitos y enzimas relacionadas con los mecanismos de defensa, como la enzima Fenil-alanina amonio-liasa involucrada en la biosíntesis de fitoalexinas, quitinasas y glucanasas. Los genes de las plantas responden a patógenos o elicitores, por esta razón, los mecanismos de defensa de las plantas no necesariamente requieren de la estimulación de un agente vivo.

Dingle y Mcgee (2003); Istifadah y Mcgee (2006) señalan que, en experimentos realizados, la protección de plantas contra los hongos patogénicos se observó después de la inoculación de las plantas con los endófitos, así como después de la aplicación de filtrados de cultivos endófitos, sugieren que los endófitos pueden

producir un compuesto antifúngico o una sustancia que pueden inducir los mecanismos de defensa de la planta. Este es el caso de los endófitos de los géneros *Chaetomium* y *Phoma* que protegen al trigo frente a la roya de las hojas, cuando estos hongos se inocularon previamente en las plantas, la reducción de la severidad de la enfermedad foliar causada por *Puccinia* spp y *Pyrenophora* fue observado y, el mismo efecto protector se observó cuando las plantas son rociadas con extractos líquidos de cultivos de endófitos. En este caso, los endófitos podrían producir sustancias que inhiben a los patógenos, aunque también estas sustancias podrían inducir mecanismos de defensa en la planta.

CONCLUSIONES

- Se logró aislar un total de 425 cepas de hongos endófitos de tallos y hojas sanas del cafeto de 10 sectores del distrito de San Juan del Oro, los hongos endófitos más aislados pertenecen a los siguientes géneros: *Botryosphaeria*, *Colletotrychum*, *Pestalotiopsis*, *Xilaria*, *Fusarium* y *Trichoderma* de los cuales se logró caracterizar 5 cepas pertenecientes a *Trichoderma* sp. que mostraron distintas características microscópicas y culturales entre ellas.
- Todas las cepas de *Trichoderma* sp. endófito del cafeto influyeron en el desarrollo de plantas de cafeto a nivel de vivero con aplicación vía Drench suelo; sin embargo, el tratamiento T1 tuvo mayor efecto en altura de planta con 12.70 cm, diámetro de tallo con 2.5 mm, número de hojas con 7.6 hojas, longitud de raíz principal con 11.38 cm, seguido del tratamiento T2 en altura de planta con 12.10 cm, diámetro de tallo con 2.276 mm, número de hojas con 7.2 hojas y longitud de raíz principal con 9.5 cm mostrándose superiores al testigo.
- La cepa T1, resultó ser un potencial biocontrolador de *Hemileia vastatrix* en plántulas de cafeto mostrando un menor porcentaje de incidencia (35.8%), severidad (8.95%) y AUDPC (56.625 unidades) siendo superior el testigo enfermo que mostró mayor porcentaje de incidencia (96.67%), severidad (39.5%) y AUDPC (365.00 unidades).

RECOMENDACIONES

- Realizar la identificación a nivel de especie de los hongos endófitos antagonísticos que fueron aislados de la planta del cafeto.
- Realizar estudios sobre formas de aplicación de las cepas de *Trichoderma* sp. endófitos con el fin de promover el crecimiento en plantones de café a nivel de vivero y control de la roya amarilla del cafeto.
- Se recomienda realizar investigaciones en campo definitivo del cultivo de cafeto probando concentraciones de *Trichoderma* sp. para evaluar el control de la roya amarilla del cafeto.
- Se recomienda utilizar estos hongos endófitos de *Trichoderma* sp. como una alternativa adicional dentro de una estrategia de manejo integrado de enfermedades.

REFERENCIAS

- Abello, J.F. y Kelemu, S. (2006). Hongos endófitos: ventajas adaptativas que habitan en el interior de las plantas. Rev. Corpoica – Ciencia y Tecnología Agropecuaria. 7(2), 55-57.
- Acurio, V.R.D. y España, I.C.K. (2016). Aislamiento, caracterización de *Trichoderma spp.* como biocontrolador de crecimiento vegetal en pasturas de raygrass (*Lolium perenne*) y trébol blanco (*Trifolium repens*). Ecuador. Revista de ciencias de la vida 25(1): 53-61.
- Agrios, G.N. (1996). Fitopatología. Editorial. Limusa, S.A de C.V. México. 838 pp.
- Arcila, P. J. (2004). Anormalidades en la floración del cafeto (Avances Técnicos No. 320). Chinchiná: CENICAFÉ. 8 p.
- Arcila, P. J.; Buhr L.; Bleiholder, H.; Hack, H.; Wicke, H. (2001). Aplicación de la escala BBCH ampliada para la descripción de fases fenológicas del desarrollo de la planta de café *Coffea sp.* Boletín Técnico N°23. Chinchiná: CENICAFÉ. 31 p.
- Arcila, P. J.; Farfán, V., F.; Moreno, B., A.M.; Salazar, G., L.F.; Hincapié, G., E. (2007). Sistemas de producción de café en Colombia. Chinchiná: CENICAFÉ. 309 p.
- Arnold, A.E.; Mejia, L.C.; Kylló, D.; Rojas I.E.; Maynard, Z.; Robbins, N.; Herre, E.A. (2003). Fungal endophytes limit pathogen damage in a tropical tree. Proc Natl Acad Sci USA 2003; 100: 15649-15654.
- Avelino, J. y Rivas, G. (2014). La roya anaranjada del cafeto. Hal. archives-ouvertes. 47pp.
- Baralt, E.A.; Fernández, R.; Sosa, D., Iztúriz. M.A.; Pérez, S.;Parra, D.(2012). Identificación preliminar de hongos endófitos cultivables presentes en hojas y frutos de cacao. Researchgate. Caracas. 9pp.
- Barnett, H. L. and Hunter B.B. (1998). Ilustred genera of imperfect fungi. Fourth edition. St. Paul, Minnesota. USA. APS PRESS.218.

- Barreto, R. W.; Agustín, C. A. A.; Herrera, R. M.; Salcedo, S. S.; Evans, H. (2017). Controle biológico da ferrugem do cafeeiro com fungos micoparasitas e endofíticos. Departamento de Fitopatología, Universidad Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 36570-900, Brasil.
- Barron, G.L. (1968). The Genera of Hyphomycetes from soil. Onitario, Canadá. Baltimore. 364p.
- Camargo, C.D.F. Y Avila, E.R. (2013) Efectos del *Trichoderma* sp. sobre el crecimiento y desarrollo de la arveja (*Pisum sativum* L.). Rev Ciencia y Agricultura. Vol.11 N°01.
- Camayo, G.C.; Arcila, P. J. (1996). Estudio anatómico y morfológico de la diferenciación y desarrollo de las flores del cafeto *Coffea arabica* L. variedad Colombia. Cenicafé 47(3):121-139.
- Cano, M.A. (2011). Interacción de microorganismos benéficos en plantas: Micorrizas, *Trichoderma* spp. y *Pseudomonas* spp. Rev. U.D.C.A. 14(2):15-31.
- Carbajal, A.F.S. (2017). Identificación de hongos endófitos y su uso en la bioprotección de plántulas de café para reducir el daño de *Colletotrichum coffeanum* en San Martín – Perú. Título para obtener el grado de Ingeniero Agrónomo. Universidad Nacional de San Martín-Tarapoto. Facultad de Ciencias Agrarias. Tarapoto. Perú. 62pp.
- Carhuavilca, G.N.L. (2011). Evaluación de la eficacia de especies de *Trichoderma* spp en el control del ojo de pollo del café, en la provincia de la Convención. Tesis para optar el Título Profesional de Ingeniero Agrónomo Tropical. Universidad nacional de San Antonio Abad del Cusco - Facultad de Ciencias Agrarias Tropicales. Cusco. Perú. 130pp.
- Casteñada, P.E. (2000). El ABC del café: Cultivando calidad. Edición Tecnatrop S.R.L Manual Informativo N°02. Lima. Perú. 179p.
- Castro, F.R.; Charles, E. H. y Barreto, R.W. (2009). Confirmation of the occurrence of teliospores of *Hemileia vastatrix* in Brazil with observations on their mode of germination. Brasil. Tropical Plant Pathology, 34 (2):108-113.

- Castro, T.A.M. Y Rivillas, O.C.A. (2012). *Trichoderma spp.* Modos de acción, eficacia y usos en el cultivo de café. Boletín técnico Cenicafé. Chinchiná, Caldas, Colombia.31pp.
- Charrier, A.; Berthaud, J. (1985). Botanical classification of coffee. In Coffee: botany, biochemistry and production of beans and beverage. Ed.Cliffort, M.N. and Wilson K.C. 13-47. Croom Helm, London.
- CICAFAE. (2011). Guía Técnica para el Cultivo del Café. Primera edición. Heredia. Costa Rica. 72p.
- Costa, M.; Zambolim, L.; Rodrigues, F. (20016). Efeito de níveis de desbaste de frutos do cafeeiro na incidência da ferrugem, no teor de nutrientes, carboidratos e açúcares redutores. Fitopatología Brasileira 31(6):564-571.
- Cowley, G.T. (1970). Vertical Study of Microfungal Populations on Leaves of *Dacryodes excelsa* and *Manilkara bidentata*. Odum HT, Pigeon RF (eds.). A Tropical Rain Forest: A Study of Irradiation and Ecology at El verde, Puerto Rico. Springfield, USA: Atomic Energy Commission. p. F41-F42.
- Cristancho, M.A., Rozo, Y., Escobar, C., Rivillas, C.A., y Gaitán, A.L., 2012. Outbreak of coffee leaf rust (*Hemileia vastatrix*) in Colombia. New Disease Reports. 25(19): doi:10.5197/j.20440588.2012.025.019.
- Dai, C.C.; Yu, B.Y.; Li, X. (2008). Screening of endophytic fungi that promote the growth of *Euphorbia pekinensis*. Afr. J. Biotechnol. 7: 3505-3509.
- Dingle, J. y Mcgee, P.A. (2003). Some endophytic fungi reduce the density of pustules of *Puccinia recondite* f.sp. *triticii* wheat. Mycological Research, 107: 310–316.
- FNC-Cenicafé. (2013). Manual de cafetero colombiano. Impreso por LEGIS. Colombia.
- Fundes, G. (2012). Manual del café-Central Café y Cacao. Segunda edición. Impreso Arte e Impresiones Corporativos. Perú.254 p.
- Galeano, M.F.; Mendez, f. y Urbaneja, A.Efecto de *Trichoderma harzianum* Rifai (cepa T-22) sobre cultivos hortícolas. Koppert Biological Systems.Murcia. España.

- Gamboa, M.A. (1998). Ecología de comunidades y genética de hongos endófitos en hojas de *Guarea guidonia* (Meliaceae) (tesis de maestría). Departamento de Biología. Universidad de Puerto Rico, San Juan. Puerto Rico.
- Gao, Fu-Kan; Dai, Chuan-Chao y Liu, Xiao-Zhen. (2010). Mechanisms of fungal endophytes in plant protection against pathogens. African Journal of Microbiology Research Vol. 4(13) pp. 1346-1351.
- García, E.G.; Jiménez, E.; Castro O. y Mora, B. (1992). Variación en la composición química foliar de *Coffea* sp. (Rubiales: Rubiaceae) y su relación con la Resistencia a *Hemileia vastarix* (Uredinales: Pucciniaceae). Rev. Biol. Trop., 41(2):209-214.
- García, M. (2002). Cultivos tropicales nativos y aclimatados de la cuenca del Huallaga. Cajamarca. Perú. 46p.
- Giménez, C.; Cabrera, R.; Reina, M.; Coloma, A. (2007). González. Fungal endophytes and their role in plant protection. Curr. Org. Chem. 11: 707-720.
- Gómez, L. (1984) Película de agua sobre las hojas de los cafetos. Cenicafé 35(4):94-101.
- González, D.A. (2015). Aislamiento e identificación de hongos endófitos de la especie *Piper aduncum* (Piperaceae) y su actividad bactericida antagónica frente a distintas cepas microbianas. Tesis para optar el título de Químico Industrial. Universidad Tecnológica de Pereira - Facultad de Tecnología - Escuela de Tecnología Química. Pereira. Colombia. 77pp
- Guilcapi, P.E.D. (2009). Efecto de *Trichoderma harzianum* y *Trichoderma viride*, en la producción de planta de café (*Coffea arabica*) variedad Caturra a nivel de vivero. Tesis para optar el título de Ingeniero Agrónomo. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo- Facultad de Recursos Naturales. Riobamba. Ecuador. 73 pp.
- Inácio, M.L.; Silva, G.H.; Teles, H.L.; Trevisan, H.C.; Cavalheiro, A.J.; Bolzani, V.S.; Young, M.C; Pfenning, L.H.; Araujo, A.R. (2006). Antifungal metabolites from *Colletotrichum gloeosporioides*, and endophytic fungus in *Cryptocaryamandioccana* Nees (Lauraceae). Bioch Syst Ecol 34, 822-824

- Istifadah, N. y Mcgee, P.A. (2006). Endophytic *Chaetomium globosum* reduces development of tan spot in wheat caused by *Pyrenophoratrifici-repentis*. *Australasian Plant Pathology*, 35: 411-418.
- Kuldau, G. et Bacon, C. (2008). Clavicipitaceo us endophytes: Their ability to enhance resistance of grasses to multiple stresses, *Biol. Control*, 46: 57-71.
- Kushalappa, A.C.; Eskes, A.B. (1989). *Coffee rust: Epidemiology, resistance, and management*. Boca Raton: CRC press. 345 pp
- León, T.B.2016. Investigaciones e innovaciones a partir de hongos endófitos en el Perú. Universidad Nacional del Altiplano. Congreso Macrorregional de Ciencias Agrarias. Puno.
- Leppik, E.E., 1970. Genes centers of plants as sources of disease resistance. *Annual Review of Phytopathology*. 8(3514): 323-344.
- Lodge, D.J. y CantrelL S. (1995). Fungal Communities in Wet Tropical Forests: Variation in Time and Space. *Can J Bot. (S1)*: S1391-S1398.
- Lodge, D.J.; Fisher, P.J. y Sutton, B.C. (1996). Endophytic Fungi of *Manilkara bidentata* Leaves in Puerto Rico. *Mycologia*. 88:733-738.
- Lu, H.; Zou, W.X.; Meng, J.C.; Hu, J.; Tan, R.X. (2000). New bioactive metabolites produced by *Colletotrichum* sp., an endophytic fungus in *Artemisia annua*. *Plant Sci*. 151: 67-73.
- Marín, C.G. (2012). *Producción de cafés especiales - Manual técnico*. Impreso Roble Rojo Grupo de Negocios S.A.C. Selva Central. 46p.
- Mora, A.G. (2016). *Roya del cafeto Hemileia vastatrix* Berkeley & Broome ficha técnica N°40. Servicio nacional de sanidad, inocuidad y calidad agroalimentaria. Dirección general de sanidad vegetal. México. 23p.
- Ordoñez, C.N.F. (2012). efecto de hongos endófitos de orquídeas del grupo *Rhizoctonia* y otros endófitos cultivables sobre el desarrollo de plantas de *Vanilla planifolia* Jacks. Tesis para optar el título de Magíster en Bosques y Conservación Ambiental. Universidad Nacional de Colombia - Facultad de Ciencias Agropecuarias - Maestría en Bosques y Conservación Ambiental. Medellín. Colombia. 64pp.

- Petrini, O. (1986). Taxonomy of endophytic fungi of aerial plant tissues. En: N. J. Fokema and J. Van den Heuvel (eds.), *Microbiology of the phyllosphere*, pp. 175-187. Cambridge University Press. Cambridge.
- Ramírez, R.J.Y.; Delgado, F.E.; Rodolfi, M. y Solveig, T. (2006). Actividad antagónica de hongos endófitos de plantas medicinales del Ecuador sobre bacterias patógenas. *Boletín Micológico* Vol. 21: 49 – 53. Ecuador.
- Rodríguez, K. F. (1996). Fungal endophytes of palms. En: S.C. Redlin y L.M. Carris (eds.), *Endophytic fungi in grasses and woody plants*, pp. 121-132. APS Press, Minnesota.
- Rodríguez, G.; Flores, E.J.; León, B.; Arévalo, E. (2011). Caracterización morfológica de hongos endófitos asociados a caco nativo y su capacidad antagónica para el control de *Moniliophthora perniciosa*. Universidad Nacional de San Martín. Laboratorio de Sanidad Vegetal. Instituto de Cultivos Tropicales. Laboratorio de Fitopatología. Tarapoto. Perú.
- Roiz, A.C.E.; León, F.L.R. y Paniagua, O. (2013). *Revista de la Universidad del Valle de Guatemala*. Centro de Ingeniería Bioquímica. Instituto de Investigaciones. Guatemala.25:61-65p
- Saikkonen, K.; Faeth, S.H.; Helander, M.; Sullivan, T.J. (1998). Fungal endophytes: a continuum of interactions with host plants. *Annu. Rev.Ecol. Syst.*, 29: 319-343.
- Salas, B.A. (2010). Aislamiento e identificación de endófitos y epífitos en hojas de café colectadas en dos zonas de Costa Rica y su posible empleo como biocontroladores de *Mycena citricolor*. Tesis para optar por el título de Ingeniero en Biotecnología. Instituto tecnológico de Costa Rica escuela de Biología. Cartago. Costa Rica.113pp.
- Salgado, S.C.; Cepero, G.M.C, (2005). Aislamiento de hongos endófitos en rosa (*Rosa hybrida*) en Bogotá, Colombia. *Rev Iberoam Micol*; 22: 99-101.
- Sánchez, C. (2005). Cultivo, producción y comercialización del café.10-15p.

- SENASA. (2003). Norma para la ejecución y remisión de información de actividades del programa manejo integrado de plagas del cafeto. Dirección de Programas Fitosanitarios. Lima. Perú.
- Sivila, N y Álvarez, S. (2013). Producción Artesanal de *Trichoderma*. Universidad Nacional de Jujuy. Facultad de Ciencias Agrarias. Argentina. 45 pp.
- Stone, J.K.; Bacon, C.W.; White, J.R., (2000). An overview of endophytic microbes: endophytism defined. In: Bacon, C.W., White, J.F., Jr. (Eds.), *Microbial Endophytes*. Marcel Dekker, New York, pp. 3-30.
- Strobel, G.A. (2002). Rainforest endophytes and bioactive products. *Crit Rev Biotechnol* 2002; 22: 315-333.
- Vásquez, A.V. (2013). Experimentación Agrícola Soluciones con SAS. Edita CONCYTEC. Cajamarca. Perú. 493pp.
- Vélez, A.P.E. y Rosillo, G.A.G. (1995). Evaluación del antagonismo del hongo *Verticillium lecanii*, sobre *Hemileia vastatrix*, en condiciones de invernadero y de campo. *Cenicafé*. (46) 1:45-55.
- Zapana, P.G.J. (2012). Introducción a la patología vegetal. Impreso Centro Papelero de Norte S.A. Puno. Perú. 268p.

ANEXOS



Figura 39. Recolección de muestras de hojas y tallos de café (*Coffea arabica* L.) en el centro poblado de Yanamayo del distrito de San Juan del Oro.



Figura 40. Finca San Rosario ubicado en el centro poblado de Yanamayo donde se colectó muestra de hojas y tallos del cafeto.



Figura 41. Recolección de hojas y tallos y colocados posteriormente en un sobre en el Sector Nogalani del distrito de San Juan del Oro.



Figura 42. Finca de cafeto variedad catimor ubicado en el sector de Nogalani.



Figura 43. Cafetos paloteados y afectados con distintas enfermedades en el distrito de San Juan del Oro.

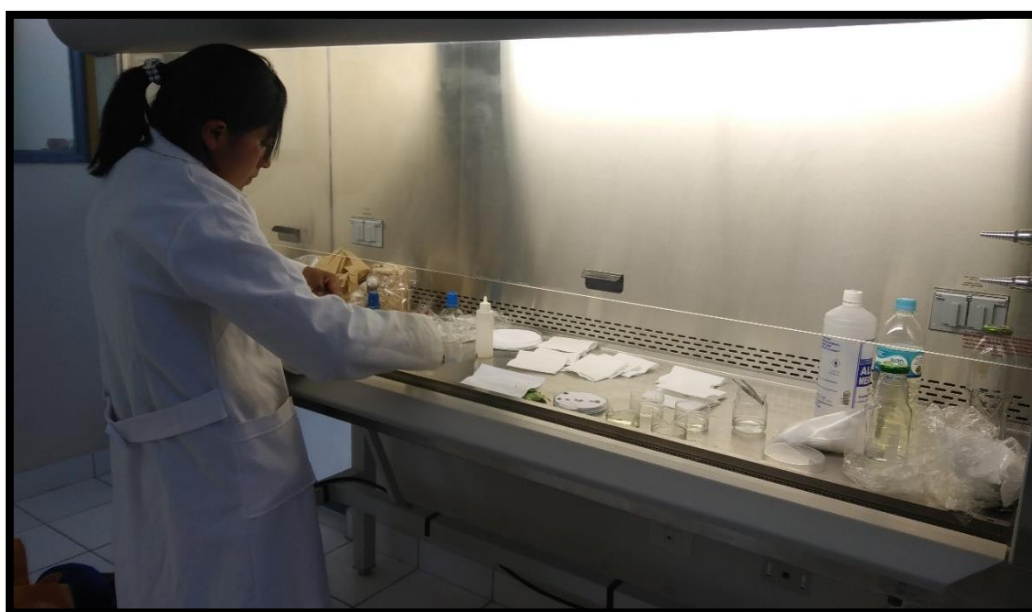


Figura 44. Procesamiento de muestras colectadas en el laboratorio en la cabina de flujo laminar en la Universidad Nacional del Altiplano.



Figura 45. Cepas de hongos endófitos aisladas de los tallos del café donde se observa la gran variedad de hongos que se logró aislar procedentes del distrito de San Juan del Oro.



Figura 46. Cepas de hongos endófitos aisladas de las hojas del cafeto donde se observa la gran variedad de hongos que se logró aislar procedentes del distrito de San Juan del Oro.

Tabla 20. Evaluación de tasa de crecimiento en cm/día de hongos endófitos *Trichoderma* sp. en medio PSA y EMA.

Trat.	Medio	Repetición 1				Repetición 2				Repetición 3							
		Día	A	B	Prom.	Día	A	B	Prom.	Día	A	B	Prom.				
T1	Medio EMA	Día	Repetición 1				Repetición 2				Repetición 3						
		A	B	C	D	Prom.	A	B	C	D	Prom.	A	B	C	D	Prom.	
		1	0.9	1.0	0.9	0.9	0.93	1.0	0.9	0.9	0.9	0.95	1.0	1.0	0.9	0.9	0.95
		2	1.7	1.8	1.7	1.7	1.73	1.9	1.8	1.8	1.9	1.85	1.9	1.9	1.9	1.9	1.90
		3	2.5	2.8	2.7	2.5	2.63	2.8	2.7	2.8	2.7	2.75	2.8	2.8	2.9	2.7	2.80
	4	3.9	3.7	3.6	3.5	3.68	3.7	3	3.45	3.5	3.40	3.7	3.7	4.0	3.6	3.75	
	Tasa de crecimiento					1.35	Tasa de crecimiento				1.00	Tasa de crecimiento				1.33	
	MEDIO PSA	Día	Repetición 1				Repetición 2				Repetición 3						
	A	B	C	D	Prom.	A	B	C	D	Prom.	A	B	C	D	Prom.		
	1	0.6	0.7	0.6	0.7	0.64	0.8	1.1	0.7	0.8	0.85	0.7	0.6	0.7	0.7	0.68	
2	1.9	1.5	1.9	1.3	1.64	1.6	2.3	1.6	1.5	1.75	1.5	1.4	1.4	1.4	1.41		
3	2.3	2.4	2.0	1.8	2.13	2.6	3.2	2.4	2.1	2.56	2.2	2.4	2.2	2.3	2.28		
4	3.2	3.2	2.6	2.5	2.88	3.4	4.1	3.4	2.8	3.43	3.0	3.1	2.9	3.0	3.00		
Tasa de crecimiento					0.74	Tasa de crecimiento				1.13	Tasa de crecimiento				0.96		
T2	Medio EMA	Día	Repetición 1				Repetición 2				Repetición 3						
		A	B	C	D	Prom.	A	B	C	D	Prom.	A	B	C	D	Prom.	
		1	0.9	0.9	0.8	1.1	0.93	1.0	0.9	1.0	1.0	0.98	0.7	0.6	0.7	0.8	0.70
		2	1.8	1.8	1.8	1.9	1.81	1.8	1.8	1.8	1.9	1.81	1.5	1.3	1.5	1.6	1.46
		3	2.8	2.8	2.7	2.9	2.80	2.8	2.9	2.85	2.7	2.80	2.4	2.1	2.4	2.5	2.33
	4	3.9	3.8	3.75	3.9	3.84	3.6	3.9	3.9	3.5	3.73	3.3	3.0	3.3	3.5	3.26	
	Tasa de crecimiento					1.47	Tasa de crecimiento				1.33	Tasa de crecimiento				1.18	
	MEDIO PSA	Día	Repetición 1				Repetición 2				Repetición 3						
	A	B	C	D	Prom.	A	B	C	D	Prom.	A	B	C	D	Prom.		
	1	1.1	0.8	1.1	1.4	1.09	0.7	0.6	0.8	0.8	0.73	0.7	1.2	0.7	0.7	0.83	
2	1.9	1.6	1.95	2.5	1.99	1.4	1.3	1.5	1.6	1.45	1.4	2.3	1.5	1.4	1.63		
3	2.5	2.4	3.0	3.2	2.78	2.1	1.9	2.15	2.3	2.10	2.0	3.0	2.2	2.2	2.33		

4	3.2	3.3	4.2	4.1	3.70	2.9	2.7	3.0	3.1	2.91	3.1	3.7	3.0	3.1	3.19	
Tasa de crecimiento				1.16		Tasa de crecimiento		1.33		Tasa de crecimiento		0.96		0.96		
Dia	Repetición 1				Repetición 2				Repetición 3							
Medio	A	B	C	D	Prom.	A	B	C	D	Prom.	A	B	C	D	Prom.	
EMA	1	0.9	0.9	0.85	1.0	0.91	1.2	1.4	1.2	1.1	1.23	1.0	1.1	1.0	1.01	
	2	3.6	3.4	3.6	3.5	3.53	3.7	3.4	3.4	3.1	3.39	3.4	3.5	3.2	3.4	3.38
Tasa de crecimiento				2.61		Tasa de crecimiento		2.16		Tasa de crecimiento		2.36		2.36		
Dia	Repetición 1				Repetición 2				Repetición 3							
Medio	A	B	C	D	Prom.	A	B	C	D	Prom.	A	B	C	D	Prom.	
PSA	1	0.9	1.1	0.9	0.9	0.94	0.9	1.0	0.8	0.8	0.86	1.1	0.9	1.1	1.2	1.06
	2	1.9	2.1	2.2	1.7	1.98	2.0	1.6	1.7	1.6	1.69	2.2	1.6	1.9	2.3	2.00
	3	2.9	3.2	3.4	2.9	3.10	2.9	2.4	2.7	2.5	2.63	3.3	2.8	2.8	3.5	3.09
Tasa de crecimiento				2.16		Tasa de crecimiento		1.76		Tasa de crecimiento		2.03		2.03		
Dia	Repetición 1				Repetición 2				Repetición 3							
Medio	A	B	C	D	Prom.	A	B	C	D	Prom.	A	B	C	D	Prom.	
PSA	1	0.5	0.6	0.5	0.7	0.56	0.6	0.8	0.55	0.6	0.64	0.6	0.6	0.5	0.6	0.55
	2	1.1	1.1	1.1	1.3	1.15	1.3	1.6	1.2	1.4	1.38	1.3	1.2	1.1	1.8	1.35
	3	1.5	1.7	1.6	1.8	1.64	1.8	2.2	1.7	1.8	1.88	2.1	1.9	1.8	2.0	1.95
	4	2.4	2.3	2.2	2.6	2.38	2.4	2.6	2.4	2.5	2.48	2.7	2.7	2.6	2.8	2.70
Tasa de crecimiento				1.81		Tasa de crecimiento		1.84		Tasa de crecimiento		2.15		2.15		
Dia	Repetición 1				Repetición 2				Repetición 3							
Medio	A	B	C	D	Prom.	A	B	C	D	Prom.	A	B	C	D	Prom.	
EMA	1	0.8	0.7	0.8	0.8	0.78	0.7	0.8	0.8	0.9	0.78	0.9	1.0	0.8	0.8	0.85
	2	1.6	1.5	1.6	1.7	1.59	1.6	1.5	1.7	1.6	1.60	1.8	1.9	1.6	1.6	1.73
	3	2.4	2.3	2.4	2.6	2.43	2.5	2.2	2.4	2.4	2.38	2.6	2.7	2.5	2.4	2.55
	4	3.3	3.0	3.2	3.4	3.23	3.3	3.2	3.3	3.3	3.28	3.3	3.3	3.3	3.2	3.27
Tasa de crecimiento				2.45		Tasa de crecimiento		2.50		Tasa de crecimiento		2.42		2.42		
Dia	Repetición 1				Repetición 2				Repetición 3							
Medio	A	B	C	D	Prom.	A	B	C	D	Prom.	A	B	C	D	Prom.	
EMA	1	0.9	0.9	0.85	1.0	0.91	1.2	1.4	1.2	1.1	1.23	1	1.1	1.0	1.0	1.01

	2	3.6	3.4	3.6	3.5	3.53	3.7	3.4	3.4	4.1	3.64	3.4	3.5	3.2	3.3	3.35	
	Tasa de crecimiento																
				2.61		2.41										2.34	
T5	Dia	Repetición 3															
	PSA	A	B	C	D	Prom.	A	B	C	D	Prom.	A	B	C	D	Prom.	
	1	1.2	1.1	1.2	1.2	1.16	1.7	1.6	1.9	1.9	1.78	1.8	1.7	2.0	1.5	1.74	
	2	2.8	2.8	2.7	2.7	2.74	2.6	2.8	2.7	2.7	2.70	2.7	2.7	3.4	2.6	2.85	
		Tasa de crecimiento															
					1.58		0.93										1.11

Tabla 21. Datos registrados para altura de planta (cm) y diámetro de tallo (mm) de plántulas de café a nivel de vivero luego de la aplicación de cepas de *Trichoderma* sp. endófito para cada mes en el distrito de San Juan del Oro para los tres meses de evaluación.

TRAT.	REPET.	APLICACIÓN (MES)	ALTURA DE PLANTA (cm)	DIÁMETRO DE TALLO (mm)
T1	1	1	9.8	2.18
T1	1	2	11.7	2.22
T1	1	3	13.1	2.26
T1	2	1	9.6	2
T1	2	2	11.7	2.4
T1	2	3	13.5	2.88
T1	3	1	9.6	2
T1	3	2	11.4	2.12
T1	3	3	12.7	2.52
T1	4	1	9	2.22
T1	4	2	10.2	2.28
T1	4	3	12	2.48
T1	5	1	9.1	2
T1	5	2	10.4	2.12
T1	5	3	12.2	2.36
T2	1	1	9.4	2.18
T2	1	2	11.6	2.2
T2	1	3	12.1	2.36
T2	2	1	8.7	2.08
T2	2	2	10.6	2.16
T2	2	3	12	2.22
T2	3	1	9.6	2.12
T2	3	2	11.3	2.28
T2	3	3	12.6	2.3
T2	4	1	8.4	2
T2	4	2	10.6	2.12
T2	4	3	11.8	2.28
T2	5	1	8.3	2
T2	5	2	10.5	2.18
T2	5	3	12	2.22
T3	1	1	8.5	1.88
T3	1	2	9.2	2
T3	1	3	10.2	2.28
T3	2	1	9	1.96
T3	2	2	9.8	2
T3	2	3	10.7	2.14
T3	3	1	8.3	1.62
T3	3	2	9.2	2.08
T3	3	3	10.4	2.12
T3	4	1	8.3	1.98
T3	4	2	9.9	2

T3	4	3	11.7	2.08
T3	5	1	8.4	1.88
T3	5	2	9.8	1.98
T3	5	3	11.7	2
T4	1	1	8.4	1.88
T4	1	2	10.5	1.98
T4	1	3	11.5	2
T4	2	1	8.8	1.82
T4	2	2	11	1.98
T4	2	3	11.4	2.02
T4	3	1	9.2	1.88
T4	3	2	10.1	1.92
T4	3	3	11.5	2.22
T4	4	1	8.4	2.16
T4	4	2	9.8	2.22
T4	4	3	10.4	2.28
T4	5	1	10.4	2
T4	5	2	11.7	2.18
T4	5	3	12.3	2.32
T5	1	1	9.5	2
T5	1	2	11	2.2
T5	1	3	12.5	2.28
T5	2	1	8.3	1.86
T5	2	2	10	2
T5	2	3	11.9	2.24
T5	3	1	8.3	2.08
T5	3	2	10	2.14
T5	3	3	12.3	2.24
T5	4	1	8.3	1.96
T5	4	2	9.8	2.08
T5	4	3	10.6	2.18
T5	5	1	8.2	1.98
T5	5	2	9.9	2.16
T5	1	3	10.9	2.32
TESTIGO	1	1	7.7	1.4
TESTIGO	1	2	10	1.48
TESTIGO	1	3	10.4	1.78
TESTIGO	2	1	8.2	1.74
TESTIGO	2	2	9.5	1.96
TESTIGO	2	3	10.3	2
TESTIGO	3	1	7.8	1.74
TESTIGO	3	2	8.7	1.82
TESTIGO	3	3	9.8	1.96
TESTIGO	4	1	8.2	1.88
TESTIGO	4	2	9.2	1.96
TESTIGO	4	3	9.7	2.08
TESTIGO	5	1	7.9	1.72
TESTIGO	5	2	8.5	1.92
TESTIGO	5	3	9.9	2

Tabla 22. Datos registrados para número de hojas de plántones de café (unidad) con su transformación con log y longitud de la raíz principal en plántones de café luego de ser aplicados con cepas de *Trichoderma* sp. endófito a nivel de vivero en el distrito de San Juan del Oro para el tercer mes de evaluación.

OBS	TRATAMIENTO	REPETICION	NUMERO DE HOJAS (Unidad)		LONGITUDE DE LA RAIZ PRINCIPAL
			UNI	UNI1	LONGITUD (cm)
1	T1	1	8	2.07944	10
2	T1	2	8	2.07944	12
3	T1	3	8	2.07944	11
4	T1	4	8	2.07944	12.4
5	T1	5	6	1.79176	11.5
6	T2	1	6	1.79176	9
7	T2	2	8	2.07944	10
8	T2	3	8	2.07944	9.5
9	T2	4	6	1.79176	9
10	T2	5	8	2.07944	10
11	T3	1	6	1.79176	7.4
12	T3	2	4	1.38629	6.5
13	T3	3	4	1.38629	7
14	T3	4	6	1.79176	6
15	T3	5	4	1.38629	6
16	T4	1	6	1.79176	7
17	T4	2	6	1.79176	7
18	T4	3	6	1.79176	6
19	T4	4	4	1.38629	5.8
20	T4	5	4	1.38629	6.6
21	T5	1	8	2.07944	9
22	T5	2	6	1.79176	7
23	T5	3	6	1.79176	8
24	T5	4	6	1.79176	8
25	T5	5	4	1.38629	8.5
26	TESTIGO	1	4	1.38629	5.3
27	TESTIGO	2	4	1.38629	5
28	TESTIGO	3	4	1.38629	4.5
29	TESTIGO	4	4	1.38629	5
30	TESTIGO	5	4	1.38629	5.5

Tabla 23. Datos registrados en incidencia y severidad de la roya amarilla en plántones de café y su transformación con logaritmo a nivel de vivero en distrito de San Juan del Oro al ser aplicados con cepas de *Trichoderma* sp. endófito al comienzo de la evaluación.

Obs	Trat.	REP	EVAL	Incidencia (%)	INCI1	Severidad (%)	SEVE1
1	T1	1	1	0	1.609	0	1.609
2	T1	1	2	12.5	2.862	1.5	1.872
3	T1	1	3	25	3.401	1.5	1.872
4	T1	1	4	33.33	3.646	8	2.565
5	T1	1	5	37.35	3.746	8	2.565
6	T1	2	1	0	1.609	0	1.609
7	T1	2	2	0	1.609	0	1.609
8	T1	2	3	0	1.609	0	1.609
9	T1	2	4	0	1.609	1.5	1.872
10	T1	2	5	16.67	3.076	1.5	1.872
11	T1	3	1	0	1.609	0	1.609
12	T1	3	2	0	1.609	1.5	1.872
13	T1	3	3	16.67	3.076	1.5	1.872
14	T1	3	4	33.33	3.646	3	2.079
15	T1	3	5	37.5	3.750	24.25	3.376
16	T1	4	1	0	1.609	0	1.609
17	T1	4	2	0	1.609	0	1.609
18	T1	4	3	12.5	2.862	0	1.609
19	T1	4	4	25	3.401	0	1.609
20	T1	4	5	50	4.007	3	2.079
21	T1	5	1	0	1.609	1.5	1.872
22	T1	5	2	12.5	2.862	3	2.079
23	T1	5	3	33.33	3.646	3	2.079
24	T1	5	4	33.33	3.646	8	2.565
25	T1	5	5	37.5	3.750	8	2.565
26	T2	1	1	0	1.609	0	1.609
27	T2	1	2	0	1.609	1.5	1.872
28	T2	1	3	0	1.609	1.5	1.872
29	T2	1	4	0	1.609	1.5	1.872
30	T2	1	5	25	3.401	3	2.079
31	T2	2	1	0	1.609	0	1.609
32	T2	2	2	25	3.401	1.5	1.872
33	T2	2	3	37.5	3.750	3	2.079
34	T2	2	4	50	4.007	3	2.079
35	T2	2	5	50	4.007	8	2.565
36	T2	3	1	0	1.609	0	1.609
37	T2	3	2	0	1.609	0	1.609
38	T2	3	3	16.67	3.076	0	1.609
39	T2	3	4	25	3.401	8	2.565
40	T2	3	5	37.5	3.750	8	2.565

41	T2	4	1	0	1.609	1.5	1.872
42	T2	4	2	12.5	2.862	1.5	1.872
43	T2	4	3	25	3.401	1.5	1.872
44	T2	4	4	25	3.401	8	2.565
45	T2	4	5	50	4.007	24.25	3.376
46	T2	5	1	0	1.609	0	1.609
47	T2	5	2	12.5	2.862	1.5	1.872
48	T2	5	3	33.33	3.646	1.5	1.872
49	T2	5	4	37.5	3.750	3	2.079
50	T2	5	5	50	4.007	8	2.565
51	T3	1	1	0	1.609	0	1.609
52	T3	1	2	0	1.609	0	1.609
53	T3	1	3	16.67	3.076	1.5	1.872
54	T3	1	4	50	4.007	3	2.079
55	T3	1	5	66.67	4.272	8	2.565
56	T3	2	1	0	1.609	0	1.609
57	T3	2	2	50	4.007	1.5	1.872
58	T3	2	3	50	4.007	3	2.079
59	T3	2	4	66.67	4.272	8	2.565
60	T3	2	5	66.67	4.272	24.25	3.376
61	T3	3	1	16.67	3.076	3	2.079
62	T3	3	2	33.33	3.646	3	2.079
63	T3	3	3	50	4.007	8	2.565
64	T3	3	4	50	4.007	24.25	3.376
65	T3	3	5	62.5	4.212	35.5	3.701
66	T3	4	1	16.67	3.076	1.5	1.872
67	T3	4	2	25	3.401	3	2.079
68	T3	4	3	37.5	3.750	8	2.565
69	T3	4	4	75	4.382	13	2.890
70	T3	4	5	87.5	4.527	24.25	3.376
71	T3	5	1	16.67	3.076	3	2.079
72	T3	5	2	33.33	3.646	3	2.079
73	T3	5	3	50	4.007	3	2.079
74	T3	5	4	66.67	4.272	8	2.565
75	T3	5	5	83.33	4.481	24.25	3.376
76	T4	1	1	12.5	2.862	1.5	1.872
77	T4	1	2	33.33	3.646	3	2.079
78	T4	1	3	33.33	3.646	3	2.079
79	T4	1	4	50	4.007	3	2.079
80	T4	1	5	66.67	4.272	13	2.890
81	T4	2	1	16.67	3.076	1.5	1.872
82	T4	2	2	25	3.401	3	2.079
83	T4	2	3	33.33	3.646	3	2.079
84	T4	2	4	50	4.007	8	2.565
85	T4	2	5	50	4.007	24.25	3.376
86	T4	3	1	16.67	3.076	1.5	1.872

87	T4	3	2	33.33	3.646	3	2.079
88	T4	3	3	50	4.007	8	2.565
89	T4	3	4	66.67	4.272	8	2.565
90	T4	3	5	75	4.382	24.25	3.376
91	T4	4	1	0	1.609	0	1.609
92	T4	4	2	16.67	3.076	1.5	1.872
93	T4	4	3	33.33	3.646	3	2.079
94	T4	4	4	50	4.007	8	2.565
95	T4	4	5	83.33	4.481	13	2.890
96	T4	5	1	16.67	3.076	1.5	1.872
97	T4	5	2	50	4.007	3	2.079
98	T4	5	3	66.67	4.272	8	2.565
99	T4	5	4	66.67	4.272	24.25	3.376
100	T4	5	5	5	2.303	35.5	3.701
101	T5	1	1	12.5	2.862	1.5	1.872
102	T5	1	2	25	3.401	3	2.079
103	T5	1	3	37.5	3.750	8	2.565
104	T5	1	4	50	4.007	24.25	3.376
105	T5	1	5	62.5	4.212	24.25	3.376
106	T5	2	1	12.5	2.862	1.5	1.872
107	T5	2	2	16.67	3.076	1.5	1.872
108	T5	2	3	33.33	3.646	3	2.079
109	T5	2	4	66.67	4.272	8	2.565
110	T5	2	5	83.33	4.481	13	2.890
111	T5	3	1	0	1.609	0	1.609
112	T5	3	2	33.33	3.646	3	2.079
113	T5	3	3	33.33	3.646	3	2.079
114	T5	3	4	50	4.007	8	2.565
115	T5	3	5	62.5	4.212	8	2.565
116	T5	4	1	16.67	3.076	1.5	1.872
117	T5	4	2	25	3.401	3	2.079
118	T5	4	3	37.5	3.750	8	2.565
119	T5	4	4	50	4.007	8	2.565
120	T5	4	5	62.5	4.212	13	2.890
121	T5	5	1	16.67	3.076	1.5	1.872
122	T5	5	2	33.33	3.646	3	2.079
123	T5	5	3	37.5	3.750	8	2.565
124	T5	5	4	50	4.007	13	2.890
125	T5	5	5	50	4.007	13	2.890
126	Tenf	1	1	50	4.007	3	2.079
127	Tenf	1	2	50	4.007	13	2.890
128	Tenf	1	3	66.67	4.272	13	2.890
129	Tenf	1	4	83.33	4.481	24.25	3.376
130	Tenf	1	5	100	4.654	35.5	3.701
131	Tenf	2	1	66.67	4.272	3	2.079
132	Tenf	2	2	66.67	4.272	8	2.565

133	Tenf	2	3	75	4.382	13	2.890
134	Tenf	2	4	83.33	4.481	24.25	3.376
135	Tenf	2	5	100	4.654	35.5	3.701
136	Tenf	3	1	33.33	3.646	3	2.079
137	Tenf	3	2	50	4.007	13	2.890
138	Tenf	3	3	66.67	4.272	13	2.890
139	Tenf	3	4	83.33	4.481	24.25	3.376
140	Tenf	3	5	100	4.654	35.5	3.701
141	Tenf	4	1	16.67	3.076	3	2.079
142	Tenf	4	2	50	4.007	8	2.565
143	Tenf	4	3	66.67	4.272	24.25	3.376
144	Tenf	4	4	83.33	4.481	35.5	3.701
145	Tenf	4	5	83.33	4.481	55.5	4.103
146	Tenf	5	1	16.67	3.076	3	2.079
147	Tenf	5	2	33.33	3.646	8	2.565
148	Tenf	5	3	50	4.007	13	2.890
149	Tenf	5	4	100	4.654	24.25	3.376
150	Tenf	5	5	100	4.654	35.5	3.701
151	Tabs	1	1	0	1.609	0	1.609
152	Tabs	1	2	0	1.609	0	1.609
153	Tabs	1	3	0	1.609	0	1.609
154	Tabs	1	4	0	1.609	0	1.609
155	Tabs	1	5	0	1.609	0	1.609
156	Tabs	2	1	0	1.609	0	1.609
157	Tabs	2	2	0	1.609	0	1.609
158	Tabs	2	3	0	1.609	0	1.609
159	Tabs	2	4	0	1.609	0	1.609
160	Tabs	2	5	0	1.609	0	1.609
161	Tabs	3	1	0	1.609	0	1.609
162	Tabs	3	2	0	1.609	0	1.609
163	Tabs	3	3	0	1.609	0	1.609
164	Tabs	3	4	0	1.609	0	1.609
165	Tabs	3	5	0	1.609	0	1.609
166	Tabs	4	1	0	1.609	0	1.609
167	Tabs	4	2	0	1.609	0	1.609
168	Tabs	4	3	0	1.609	0	1.609
169	Tabs	4	4	0	1.609	0	1.609
170	Tabs	4	5	0	1.609	0	1.609
171	Tabs	5	1	0	1.609	0	1.609
172	Tabs	5	2	0	1.609	0	1.609
173	Tabs	5	3	0	1.609	0	1.609
174	Tabs	5	4	0	1.609	0	1.609
175	Tabs	5	5	0	1.609	0	1.609

Tabla 24. Análisis de varianza para altura de planta de plántones de café con aplicación de cepas de *Trichoderma* sp. endófito para la primera evaluación (mes 1).

Fuente de variación	Grados libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Fcal	Ftab		Sig.
					0.05	0.01	
Trat.	5	6.42	1.28	4.82	2.62	3.9	**
Error	24	6.388	0.26				
Total	29	12.808					

CV=5.91%

R-Cuadrado=0.501

N.S.=no significativo.

**=Altamente significativo.

*=Significativo.

CV=Coeficiente de variabilidad.

Tabla 25. Análisis de varianza para altura de planta de plántones de café con aplicación de cepas de *Trichoderma* sp. endófito para la segunda evaluación (mes 2).

Fuente de variación	Grados libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Fcal	Ftab		Sig.
					0.05	0.01	
Trat.	5	14.4	2.88	8.36	2.62	3.9	**
Error	24	8.27	0.34				
Total	29	22.67					

CV= 5.73%

R-cuadrado=0.63

N.S.=no significativo.

**=Altamente significativo.

*=Significativo.

CV=Coeficiente de variabilidad.

Tabla 26. Análisis de varianza para altura de planta de café con aplicación de cepas de *Trichoderma* sp. endófito para la tercera evaluación (mes 3)

Fuente de variación	Grados libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Fcal	Ftab		Sig.
					0.05	0.01	
Trat.	5	21.62	4.32	11.5	2.62	3.9	**
Error	24	9.04	0.38				
Total	29	30.66					

CV= 5.35%

R-cuadrado= 0.70

N.S.=no significativo.

**=Altamente significativo.

*=Significativo.

CV=Coeficiente de variabilidad.

Tabla 27. Análisis de varianza para diámetro de tallo de los plantones de café con aplicación de cepas de *Trichoderma* sp. endófito para la primera evaluación (mes 1).

Fuente de variación	Grados libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Fcal	Ftab		Sig.
					0.05	0.01	
Trat.	5	0.52	0.1	6.61	2.62	3.9	**
Error	24	0.38	0.02				
Total	29	0.9					

CV= 6.49%

R-cuadrado= 0.58

N.S.=no significativo.

**=Altamente significativo.

*=Significativo.

CV=Coeficiente de variabilidad.

Tabla 28. Análisis de varianza de diámetro de tallo de los plantones de café con aplicación de cepas de *Trichoderma* sp. endófito para la segunda evaluación (mes 2).

Fuente de variación	Grados libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Fcal	Ftab		Sig.
					0.05	0.01	
Trat.	5	0.52	0.103	7.34	2.62	3.9	**
Error	24	0.34	0.014				
Total	29	0.85					

CV= 5.72%

R-cuadrado= 0.604

N.S.=no significativo.

**=Altamente significativo.

*=Significativo.

CV=Coeficiente de variabilidad.

Tabla 29. Análisis de varianza de diámetro de tallo de los plantones de café con aplicación de cepas de *Trichoderma* sp. endófito para la tercera evaluación (mes 3).

Fuente de variación	Grados libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Fcal	Ftab		Sig.
					0.05	0.01	
Trat.	5	0.8	0.159	8.97	2.62	3.9	**
Error	24	0.43	0.017				
Total	29	1.23					

CV=6.028%

R-cuadrado=0.651

N.S.=no significativo.

**=Altamente significativo.

*=Significativo.

CV=Coeficiente de variabilidad.

Tabla 30. Análisis de varianza para incidencia de la roya amarilla en plántones de café con aplicación de cepas de *Trichoderma* sp. endófito para la primera evaluación.

Fuente de variación	Grados libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Fcal	Ftab		Sig.
					0.05	0.01	
Trat.	6	17.689	2.948	11.96	2.44	3.73	**
Error	28	6.904	0.246				
Total	34	24.593					

CV= 21.23%

R-cuadrado= 0.719

N.S.=no significativo.

**=Altamente significativo.

*=Significativo.

CV=Coeficiente de variabilidad.

Tabla 31. Análisis de varianza para incidencia de la roya amarilla en plántones de café con aplicación de cepas de *Trichoderma* sp. endófito para la segunda evaluación.

Fuente de variación	Grados libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Fcal	Ftab		Sig.
					0.05	0.01	
Trat.	6	22.51	3.751	11.63	2.44	3.73	**
Error	28	9.033	0.322				
Total	34	31.544					

CV= 19.46%

R-cuadrado= 0.713

N.S.=no significativo.

**=Altamente significativo.

*=Significativo.

CV=Coeficiente de variabilidad.

Tabla 32. Análisis de varianza para incidencia de la roya amarilla en plántones de café con aplicación de cepas de *Trichoderma* sp. endófito para la tercera evaluación.

Fuente de variación	Grados libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Fcal	Ftab		Sig.
					0.05	0.01	
Trat.	6	23.058	3.843	16.29	2.44	3.73	**
Error	28	6.606	0.235				
Total	34	29.664					

CV= 14.66%

R-cuadrado= 0.777

N.S.=no significativo.

**=Altamente significativo.

*=Significativo.

CV=Coeficiente de variabilidad.

Tabla 33. Análisis de varianza para incidencia de la roya amarilla en plantones de cafeto con aplicación de cepas de *Trichoderma* sp. endófito para la cuarta evaluación.

Fuente de variación	Grados libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Fcal	Ftab		Sig.
					0.05	0.01	
Trat.	6	29.562	4.927	19.69	2.44	3.73	**
Error	28	7.007	0.25				
Total	34	36.569					

CV=14.06% R-cuadrado=0.808
 N.S.=no significativo. **=Altamente significativo. *=Significativo.
 CV=Coeficiente de variabilidad.

Tabla 34. Análisis de varianza para incidencia de la roya amarilla en plantones de cafeto con aplicación de cepas de *Trichoderma* sp. endófito para la quinta evaluación.

Fuente de variación	Grados libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Fcal	Ftab		Sig.
					0.05	0.01	
Trat.	6	29.800	4.967	32.66	2.44	3.73	**
Error	28	4.258	0.152				
Total	34	34.058					

CV= 10.420% R-cuadrado= 0.874
 N.S.=no significativo. **=Altamente significativo. *=Significativo.
 CV=Coeficiente de variabilidad.

Tabla 35. Análisis de varianza para severidad de la roya amarilla en plantones de cafeto con aplicación de cepas de *Trichoderma* sp. endófito para la primera evaluación.

Fuente de variación	Grados libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Fcal	Ftab		Sig.
					0.05	0.01	
Trat.	6	0.772	0.129	8.15	2.44	3.73	**
Error	28	0.442	0.016				
Total	34	1.214					

CV= 7.03% R-cuadrado= 0.636
 N.S.=no significativo. **=Altamente significativo. *=Significativo.
 CV=Coeficiente de variabilidad.

Tabla 36. Análisis de varianza para severidad de la roya amarilla en plantones de cafeto con aplicación de cepas de *Trichoderma* sp. endófito para la segunda evaluación.

Fuente de variación	Grados libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Fcal	Ftab		Sig.
					0.05	0.01	
Trat.	6	3.554	0.592	28.4	2.44	3.73	**
Error	28	0.584	0.021				
Total	34	4.138					

CV=7.24% R-cuadrado=0.858
 N.S.=no significativo. **=Altamente significativo. *=Significativo.
 CV=Coeficiente de variabilidad.

Tabla 37. Análisis de varianza de severidad de la roya amarilla en plantones de cafeto con aplicación de cepas de *Trichoderma* sp. endófito para la tercera evaluación.

Fuente de variación	Grados libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Fcal	Ftab		Sig.
					0.05	0.01	
Trat.	6	6.317	1.053	20.7	2.44	3.73	**
Error	28	1.424	0.051				
Total	34	7.741					

CV=10.43% R-cuadrado= 0.816
 N.S.=no significativo. **=Altamente significativo. *=Significativo.
 CV=Coeficiente de variabilidad.

Tabla 38. Análisis de varianza de severidad de la roya amarilla en plantones de cafeto con aplicación de cepas de *Trichoderma* sp. endófito para la cuarta evaluación.

Fuente de variación	Grados libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Fcal	Ftab		Sig.
					0.05	0.01	
Trat.	6	10.107	1.685	13.5	2.44	3.73	**
Error	28	3.493	0.125				
Total	34	13.6					

CV=14.10% R-cuadrado= 0.743
 N.S.=no significativo. **=Altamente significativo. *=Significativo.
 CV=Coeficiente de variabilidad.

Tabla 39. Análisis de varianza de severidad de la roya amarilla en plántulas de café con aplicación de cepas de *Trichoderma* sp. endófito para la quinta evaluación.

Fuente de variación	Grados libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Fcal	Ftab		Sig.
					0.05	0.01	
Trat.	6	14.651	2.442	17.56	2.44	3.73	**
Error	28	3.895	0.139				
Total	34	18.546					

CV= 13.08%

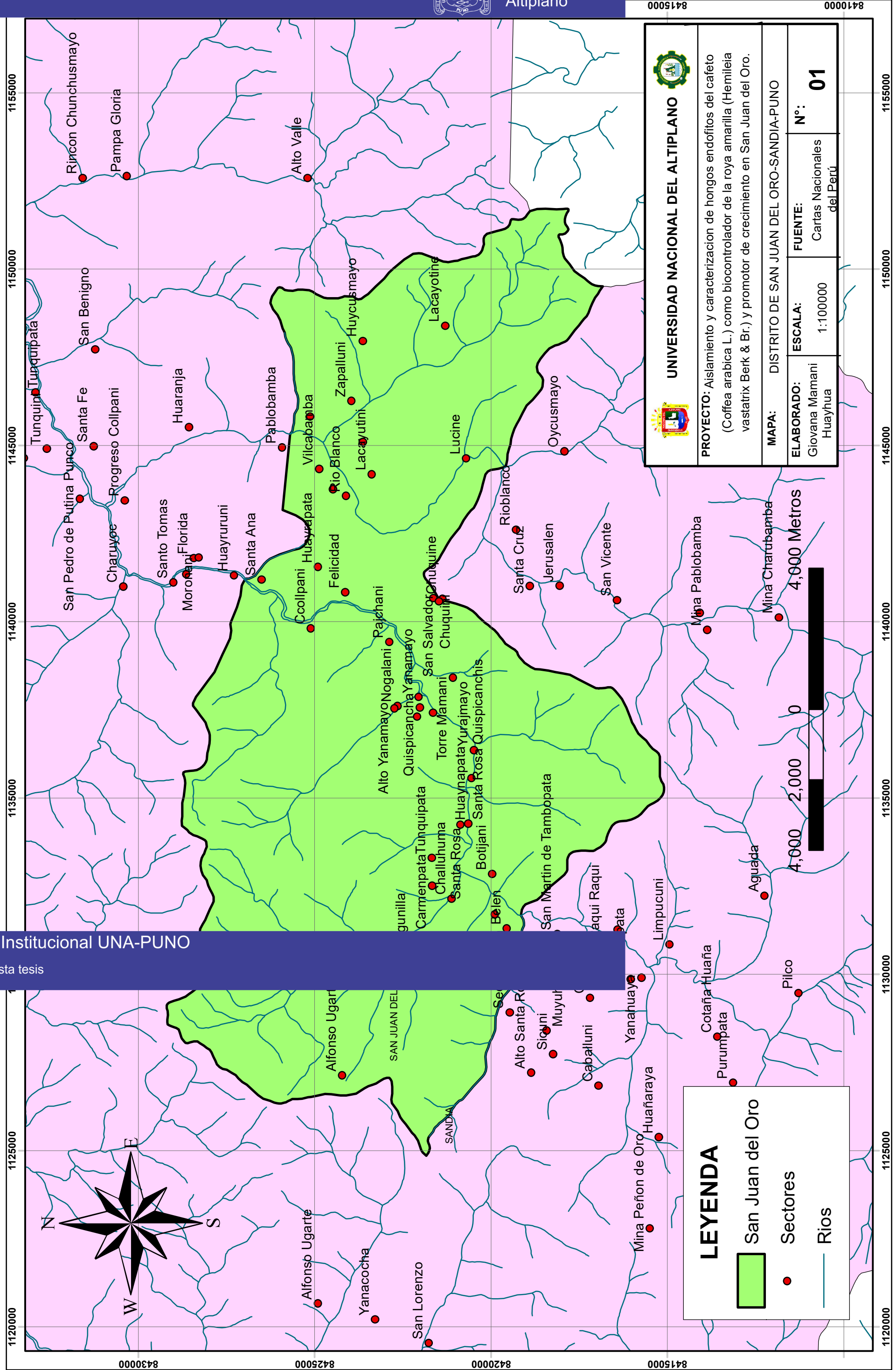
N.S.=no significativo.

CV=Coeficiente de variabilidad.

**=Altamente significativo.

R-cuadrado= 0.790

*=Significativo.



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO	
PROYECTO: Aislamiento y caracterización de hongos endofitos del café (Coffea arabica L.) como biocontrolador de la roya amarilla (Hemileia vastatrix Berk & Br.) y promotor de crecimiento en San Juan del Oro.	
MAPA: DISTRITO DE SAN JUAN DEL ORO-SANDIA-PUNO	FUENTE: Cartas Nacionales del Perú
ELABORADO: Giovana Mamani Huayhua	ESCALA: 1:100000
Nº: 01	

LEYENDA

- San Juan del Oro
- Sectores
- Rios