



Universidad
Nacional
de Loja

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA

FACULTAD AGROPECUARIA Y DE RECURSOS NATURALES RENOVABLES

CARRERA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA

CONTROL BIOLÓGICO DEL OJO DE GALLO (*Mycena citricolor*
Berk. & Curt.) EN CAFÉ CON *Trichoderma* spp. BAJO
CONDICIONES DE LABORATORIO

Trabajo de Titulación previa
a la obtención del Título de
Ingeniera Agrónoma

AUTORA:

Damarys Geanine Pereira Sarmiento

DIRECTOR:

Dr. Ing. Tulio Fernando Solano Castillo. Mg. Sc

LOJA – ECUADOR

2022

CERTIFICACIÓN DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

Dr. Tulio Fernando Solano Castillo, MgSc.,

DOCENTE TITULAR DE LA CARRERA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA

DIRECTOR DE TESIS

CERTIFICO QUE:

La señorita Damarys Geanine Pereira Sarmiento, egresada de la carrera de Ingeniería Agronómica, responsable del proyecto de tesis: **“CONTROL BIOLÓGICO DEL OJO DE GALLO (*Mycena citricolor* Berk. & Curt.) EN CAFÉ CON *Trichoderma* spp. BAJO CONDICIONES DE LABORATORIO”**, ha concluido con las fases de investigación y elaboración del documento de tesis dentro del cronograma establecido, sujetándose a la rigurosidad científica y las normas de redacción técnica vigentes en la institución.

Por lo expuesto autorizo a la Autora indicada, la presentación del documento de tesis para que continúe con los trámites legales de graduación.

Loja, 02 de marzo de 2022

TULIO
FERNANDO
SOLANO
CASTILLO

Firmado digitalmente
por TULIO FERNANDO
SOLANO CASTILLO
Fecha: 2022.03.02
18:05:08 -0500

**Dr. Tulio Fernando Solano Castillo, MgSc.
DOCENTE DIRECTOR DE TESIS**

AUTORÍA

Yo, Damarys Geanine Pereira Sarmiento declaro ser autora de la tesis del presente trabajo de Tesis y eximo expresamente a la Universidad Nacional de Loja y a sus representantes jurídicos de posibles reclamos o acciones legales por el contenido de la misma.

Adicionalmente acepto y autorizo a la Universidad Nacional de Loja, la publicación de mi tesis en el Repositorios Institucional – Biblioteca Virtual.

Firma:

Cedula: 1151116835

Fecha: 13/07/2022

Correo: damarys.pereira@unl.edu.ec

Celular: 0986782401

CARTA DE AUTORIZACIÓN DEL TRABAJO DE TITULACIÓN POR PARTE DE LA AUTORA PARA LA CONSULTA DE PRODUCCIÓN PARCIAL O TOTAL, Y PUBLICACIÓN ELECTRÓNICA DE TEXTO COMPLETO

Yo, Damarys Geanine Pereira Sarmiento, declaro ser autora de la tesis titulada “CONTROL BIOLÓGICO DEL OJO DE GALLO (*Mycena citricolor* Berk. & Curt.) EN CAFÉ CON *Trichoderma* spp. BAJO CONDICIONES DE LABORATORIO” como requisito para optar al grado de Ingeniera Agrónoma, por lo que autorizo al Sistema Bibliotecario de la Universidad Nacional de Loja para que con fines académicos muestre al mundo la publicación intelectual de la Universidad, a través de la visibilidad de su contenido en el Repositorio Digital Institucional.

Los usuarios pueden hacer uso de este trabajo investigativo en las redes de información del país (RID) y del exterior, con las que mantenga convenio de la Universidad. La Universidad Nacional de Loja no se responsabiliza por el plagio de dicha tesis que realice una tercera persona. Para constancia de esta autorización, en la ciudad de Loja a los trece días del mes de julio del dos mil veintidós.

Firma:

Aurora: Damarys Geanine Pereira Sarmiento

Cedula: 1151116835

Dirección: Catamayo - Loja.

Correo: damarys.pereira@unl.edu.ec

Celular: 0986782401

DATOS COMPLEMENTARIOS

Director de Tesis: Dr. Ing. Tulio Fernando Solano Castillo. Mg. Sc

Tribunal de Grado:

Ing. Klever Anibal Chamba Caillagua **Presidente**

PhD. Jorge Isaac Armijos Rivera **Vocal**

PhD. Ángel Rolando Robles Carrión **Vocal**

DEDICATORIA

Dedico este trabajo primeramente a Dios por regalarme vida y salud para poder culminar con una meta más en mi vida.

A mi madre por estar siempre conmigo y por motivarme constantemente para alcanzar mis sueños.

A mi familia por el cariño que siempre me han mostrado y por su apoyo incondicional durante los años de estudio.

Damarys Geanine Pereira Sarmiento

AGRADECIMIENTO

En primer lugar, agradezco a Dios por brindarme la capacidad y fortaleza para culminar el presente trabajo investigativo, ya que sin Él nada es posible.

Agradezco especialmente a mi madre por ser mi inspiración y motivación para seguir adelante, por sus consejos, apoyo y amor incondicional, a su gran esfuerzo y sacrificio por darme una carrera universitaria. A cada uno de mis familiares que siempre se encontraron ahí apoyándome en todo momento con una palabra de apoyo.

De la misma manera al Dr. Tulio Solano Castillo, en calidad de Director de tesis, por su asesoría durante el transcurso de la investigación, a la Ing. Jeamel Ruiz, técnica del Laboratorio de Sanidad Vegetal, que me apoyo con sus cocimientos en la elaboración de esta investigación.

Al haber finalizado la presente Tesis, agradezco a la Universidad Nacional de Loja, y a cada uno de los docentes que nos impartieron sus conocimientos en nuestra formación académica.

Damarys Geanine Pereira Sarmiento

ÍNDICE DE CONTENIDO

PORTADA.....	i
CERTIFICACIÓN DEL TRABAJO DE TITULACIÓN.....	ii
AUTORÍA	iii
CARTA DE AUTORIZACIÓN	iv
DEDICATORIA	v
AGRADECIMIENTO	vi
ÍNDICE DE CONTENIDO	vii
ÍNDICE DE TABLAS	x
ÍNDICE DE FIGURAS	xi
INDICE DE ANEXOS	xii
1.TÍTULO.....	1
2.RESUMEN	2
2.1 ABSTRACT.....	3
3.INTRODUCCIÓN	4
Objetivo general.....	5
Objetivos específicos	5
4.MARCO TEÓRICO	6
4.1.Generalidades del café	6
4.1.1.Origen y distribución	6
4.1.2.Zonas del cultivo de café en el Ecuador	6
4.2.Principales enfermedades del café	6
4.3.Ojo de gallo en café	7
4.3.1.Origen del ojo de gallo en café.	7
4.3.2.Taxonomía de <i>M. citricolor</i>	7
4.3.3.Morfología	7
4.3.4.Condiciones climáticas para el desarrollo <i>M. citricolor</i>	8
4.3.5.Etapas del ciclo de vida del ojo de gallo.....	8
4.3.5.1.Etapa de sobrevivencia del hongo.....	8
4.3.5.2.Etapa de germinación del hongo.....	8
4.3.5.3.Fructificación de nuevas lesiones	9
4.3.5.4.Final del ciclo de la enfermedad e inóculo residual.....	9
4.3.6.Sintomatología.....	9
4.3.7.Daños	9

4.3.8. Variedades de café susceptibles al ojo de gallo	10
4.3.9. Control del ojo de gallo.....	10
4.4. Características generales de <i>Trichoderma</i>	11
4.4.1. Taxonomía del género <i>Trichoderma</i>	11
4.4.2. Caracterización del género <i>Trichoderma</i>	12
4.4.3. Mecanismos de acción del género <i>Trichoderma</i>	12
4.5. Información referente al tema de investigación.....	12
5. MATERIALES Y MÉTODOS	14
5.1. Ubicación del estudio.....	14
5.1.1. Fase de campo.....	14
5.1.1.1. Características de los sectores de estudio	14
5.1.2. Fase laboratorio.....	15
5.2. MATERIALES	15
5.2.1. Materiales de campo	15
5.2.2. Materiales de laboratorio	15
5.3. MÉTODOS	16
5.3.1. Metodología para el primer objetivo.....	16
5.3.1.1. Incidencia	16
5.3.1.2. Severidad.....	16
5.3.2. Metodología para el segundo objetivo.....	17
5.3.2.1. Recolección de muestras	18
5.3.2.2. Preparación de medio de cultivo.....	18
5.3.2.3. Aislamiento de <i>M. citricolor</i>	18
5.3.2.4. Caracterización morfofocultural de <i>M. citricolor</i>	18
5.3.2.5. Caracterización morfológica de estructuras reproductivas de <i>M. citricolor</i>	20
5.3.3. Metodología para el tercer objetivo:	21
5.3.3.1. Reactivación de Aislados de <i>Trichoderma</i> spp.....	21
5.3.3.2. Enfrentamientos duales de <i>Mycena citricolor</i> y <i>Trichoderma</i> spp	22
5.3.3.3. Efectividad de aislados de <i>Trichoderma</i> spp. sobre el crecimiento de <i>M. citricolor</i> ...	24
5.4. Análisis estadístico.....	26
6. RESULTADOS	27
6.1. Identificación de la incidencia y severidad del hongo <i>Mycena citricolor</i> en dos sectores de los cantones Chaguarpamba y Loja.	27
6.1.1. Incidencia y severidad de <i>M. citricolor</i>	27

6.2. Identificación de las características morfológicas de los aislados de <i>Mycena citricolor</i> recolectados en dos sectores de los cantones Chaguarpamba y Loja.	27
6.2.1. Características macroscópicas de <i>M. citricolor</i>	27
6.2.2. Características microscópicas de <i>M. citricolor</i>	29
6.2.3. Crecimiento micelial de aislamientos de <i>M. citricolor</i>	29
6.2.4. Medición de estructuras reproductivas de <i>M. citricolor</i>	31
6.2.5. Área y número de estructuras reproductivas sobre el medio de cultivo	32
6.2.6. Formación de la fase asexual de <i>M. citricolor</i>	32
6.3. Evaluación del efecto de cinco aislados de <i>Trichoderma</i> spp. mediante diferentes concentraciones en el control de ojo de gallo (<i>Mycena citricolor</i> Berk. & Curt.) en café bajo condiciones de laboratorio.	33
6.3.1. Efectividad de aislados de <i>Trichoderma</i> frente a <i>M. citricolor</i> en cultivos duales.....	33
6.3.1.1. Porcentaje de Inhibición del Crecimiento Radial (PICR).....	33
6.3.2. Efectividad de aislados de <i>Trichoderma</i> spp. sobre el crecimiento de <i>Mycena citricolor</i>	35
7. DISCUSIÓN	39
7.1. Identificación de la incidencia y severidad del hongo <i>Mycena citricolor</i> en dos sectores de los cantones Chaguarpamba y Loja.	39
7.2. Caracterización morfológica en los aislados de <i>Mycena citricolor</i> recolectados en dos sectores de los cantones Chaguarpamba y Loja.....	39
7.2. Evaluación del efecto de cinco aislados de <i>Trichoderma</i> spp. mediante diferentes concentraciones en el control de ojo de gallo (<i>Mycena citricolor</i> Berk. & Curt.) en café bajo condiciones de laboratorio.	41
8. CONCLUSIONES	43
9. RECOMENDACIONES.....	44
10. BIBLIOGRAFÍA	45
11. ANEXOS	54

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Variedades de café con presencia de <i>M. citricolor</i> en dos sectores de la provincia de Loja.....	16
Tabla 2. Escala de evaluación de la severidad de <i>Mycena citricolor</i>	17
Tabla 3. Aislados de <i>Trichoderma</i> identificados por lugar de procedencia.....	22
Tabla 4. Tratamientos evaluados en el ensayo de enfrentamientos duales.....	22
Tabla 5. Capacidad antagonista, de acuerdo con la escala establecida por Bell <i>et al.</i> , (1982).	24
Tabla 6. Tratamientos evaluados en el ensayo de biocontrol de <i>M. citricolor</i> con diferentes concentraciones de <i>Trichoderma</i> spp.....	25
Tabla 7. Porcentaje de incidencia y severidad de <i>M. citricolor</i>	27
Tabla 8. Características macroscópicas de seis aislamientos de <i>M.citricolor</i> , obtenidos de las variedades de café en dos sectores de los cantones Chaguarpamba y Loja.....	28
Tabla 9. Crecimiento micelial en seis aislamientos de <i>M. citricolor</i> , expresado en milímetros.	30
Tabla 10. Medidas del diámetro de la cabeza de la estructura reproductiva, longitud del pedicelo y longitud total de la estructura reproductiva crecidas en dos ambientes, expresados en milímetros.....	31
Tabla 11. Comparacion de medias del número de estructuras reproductivas/cm ² y área promedio de estructuras reproductivas en cm ² en seis aislamientos de <i>M. citricolor</i>	32
Tabla 13. Capacidad antagonista planteada a la escala de Bell <i>et al.</i> (1982).....	35
Tabla 14. Diámetro del crecimiento micelial de aislados de <i>Trichoderma</i> sobre <i>M. citricolor</i> (Morfotipo 1), expresado en milímetros.....	36
Tabla 15. Diámetro del crecimiento micelial de aislados de <i>Trichoderma</i> sobre <i>M. citricolor</i> (morfotipo 2), expresado en milímetros.....	37
Tabla 16. Diámetro del crecimiento micelial de aislados de <i>Trichoderma</i> sobre <i>M. citricolor</i> (morfotipo 3), expresado en milímetros.....	38

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Sectores de estudio en la provincia de Loja	14
Figura 2. Escala de severidad de <i>M. citricolor</i> Leal (2011) y Pereira (2021).	17
Figura 3. Apariencia del micelio de <i>M. citricolor</i> García, (2012).	19
Figura 4. Estructura reproductiva de <i>M. citricolor</i> . 1 = diámetro de cabeza de la estructura reproductiva, 2 = longitud del pedicelo y 3 = longitud total de la estructura reproductiva	21
Figura 5. Morfotipo 1: (a) Típica-Malacatos, (b) Sarchimor-Malacatos, (c) Caturra amarilla-Malacatos; Morfotipo 2: (d) Colombia 6-Malacatos y (e) Bourbon-Malacatos y Morfotipo 3: (f) Bourbon-Santa Rufina	28
Figura 6. Formación de la fase asexual de <i>M. citricolor</i> en medio de cultivo PDA a 25°C ± 1.	33
Figura 7. Mapa de los sectores de estudio de <i>M. citricolor</i> en los cantones Malacatos y Chaguarpamba	54
Figura 8. Escala de severidad de <i>M. citricolor</i> Leal (2011) y Pereira (2021).	54
Figura 9. Control dual del morfotipo 1 de <i>M. citricolor</i> con fungicida y <i>Trichoderma</i> : Químico/M1 (T1), <i>T. harzianum</i> /M1 (T2), C3/M1 (T3), T3TkT19/M1 (T4), G8CTM4/M1 (T5), SF2b/M1 (T6) y Testigo (T7).	61
Figura 10. Control dual del morfotipo 2 de <i>M. citricolor</i> con fungicida y <i>Trichoderma</i> : Químico/M2 (T1), <i>T. harzianum</i> /M2 (T2), C3/M2 (T3), T3TkT19/M2 (T4), G8CTM4/M2 (T5), SF2b/M2 (T6) y Testigo (T7).	61
Figura 11. Control dual del morfotipo 3 de <i>M. citricolor</i> con fungicida y <i>Trichoderma</i> : Químico/M3 (T1), <i>T. harzianum</i> /M3 (T2), C3/M3 (T3), T3TkT19/M3 (T4), G8CTM4/M3 (T5), SF2b/M3 (T6) y Testigo (T7).	62
Figura 12. Control del morfotipo 1 de <i>M. citricolor</i> con concentraciones de <i>Trichoderma</i> : <i>T. harzianum</i> /C1 (T1), <i>T. harzianum</i> /C2 (T2), <i>T. harzianum</i> /C3 (T3), C3/C1 (T4), C3/C2 (T5), C3/C3 (T6), T3TkT19/C1 (T7), T3TkT19/C2 (T8), T3TkT19/C3 (T9), G8CTM4/C1 (T10), G8CTM4/C2 (T11), G8CTM4/C2 (T12), SF2b/C1 (T13), SF2b/C2 (T14), SF2b/C3 (T15), Químico (T16) y Testigo (T17).	63
Figura 13. Control del morfotipo 2 de <i>M. citricolor</i> con concentraciones de <i>Trichoderma</i> : <i>T. harzianum</i> /C1 (T1), <i>T. harzianum</i> /C2 (T2), <i>T. harzianum</i> /C3 (T3), C3/C1 (T4), C3/C2 (T5), C3/C3 (T6), T3TkT19/C1 (T7), T3TkT19/C2 (T8), T3TkT19/C3 (T9), G8CTM4/C1 (T10), G8CTM4/C2 (T11), G8CTM4/C2 (T12), SF2b/C1 (T13), SF2b/C2 (T14), SF2b/C3 (T15), Químico (T16) y Testigo (T17).	64
Figura 14. Control del morfotipo 3 de <i>M. citricolor</i> con concentraciones de <i>Trichoderma</i> : <i>T. harzianum</i> /C1 (T1), <i>T. harzianum</i> /C2 (T2), <i>T. harzianum</i> /C3 (T3), C3/C1 (T4), C3/C2 (T5), C3/C3 (T6), T3TkT19/C1 (T7), T3TkT19/C2 (T8), T3TkT19/C3 (T9), G8CTM4/C1 (T10), G8CTM4/C2 (T11), G8CTM4/C2 (T12), SF2b/C1 (T13), SF2b/C2 (T14), SF2b/C3 (T15), Químico (T16) y Testigo (T17).	65

INDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Mapa de las sectores de estudio de <i>M. citricolor</i> en la provincia de Loja.....	54
Anexo 2. Escala de severidad de <i>M. citriolor</i>	54
Anexo 3 . Características macroscópicas y microscópicas en 6 aislamientos de <i>M.citricolor</i> , obtenidos de las variedades de café en dos sectores de la provincia de Loja.....	55
Anexo 4. Ensayo dual para controlar <i>M. citricolor</i> con fungicida químico y 5 aislados de <i>Trichoderma</i>	61
Anexo 5. Ensayo de concentraciones de <i>Trichoderma</i> para controlar <i>M. citricolor</i>	63
Anexo 6. Certificado de traducción del Abstrac.....	66

**CONTROL BIOLÓGICO DEL OJO DE GALLO (*Mycena citricolor* Berk.
& Curt.) EN CAFÉ CON *Trichoderma* spp. BAJO CONDICIONES DE
LABORATORIO**

2. RESUMEN

La enfermedad ojo de gallo es causada por el hongo *Mycena citricolor*, el principal daño que ocasiona es la defoliación en plantas de café, afectando su desarrollo y producción. En la presente investigación se planteó identificar la incidencia y severidad de *M. citricolor* en dos sectores Malacatos y Santa Rufina, de la provincia de Loja, identificar las características morfo culturales de los aislados de *M. citricolor* y evaluar el efecto de *Trichoderma* spp. en el control del ojo de gallo en café bajo condiciones de laboratorio. Para determinar la incidencia se aplicó la fórmula de Cooke (2006) y para la severidad se empleó la escala de Leal (2011) y Pereira (2021), asimismo, para la caracterización de los aislados se utilizó descriptores referenciados por García (2012) y para el control del ojo de gallo se emplearon 5 aislamientos de *Trichoderma*, 4 procedentes del laboratorio de Sanidad Vegetal y una de un producto comercial (Biot-Trich), se realizaron ensayos duales de *M. citricolor* y *Trichoderma* y ensayos de diferentes concentraciones de *Trichoderma* sobre el micelio de *M. citricolor*. Conforme a los resultados obtenidos, se determinó un 100 % de incidencia de la enfermedad en todas las variedades, mientras que, el mayor porcentaje de severidad presentaron las variedades Bourbon en Santa Rufina (72 %) y Sarchimor de la Hacienda Cristal (62,28 %). Por otra parte, se obtuvieron tres morfotipos de *M. citricolor* de los seis aislamientos de las variedades de café, los cuales fueron agrupados de acuerdo con sus características morfo culturales. Con respecto a los 5 aislados de *Trichoderma* evaluados en cultivos duales, el aislado G8CTM4 fue el que mayor inhibió el crecimiento del hongo patógeno en los tres morfotipos de *M. citricolor*, asimismo los 5 aislados de *Trichoderma* en las tres concentraciones crecieron sobre el disco de *M. citricolor*, logrando inhibir el crecimiento de patógeno.

Palabras clave: Caracterización, control, *M. citricolor*, morfotipos, *Trichoderma*.

2.1 ABSTRACT

American leaf spot of coffee is caused by the fungus *Mycena citricolor*, the main damage it causes is defoliation in coffee plants, affecting their development and production. In the present research, the aim was to identify the incidence and severity of *M. citricolor* in two places Malacatos and Santa Rufina from Loja province, to identify the morphocultural characteristics of the isolates of *M. citricolor* and to evaluate the effect of *Trichoderma* spp. in the control American leaf spot of coffee under laboratory conditions. To determine the incidence I used the formula of Cooke (2006) and for the severity applied the scale of Leal (2011) and Pereira (2021) also, for the characterization of the isolates used several references by Garcia (2012) and for control American leaf spot of coffee applied 5 isolates of *Trichoderma*, 4 are of the plant health laboratory and 1 of business product (Biot-Trich), I realized practices duals of *M. citricolor* y *Trichoderma* and practices of different concentrations of *Trichoderma* on the mycelium of *M. citricolor*. It is confirmed to the obtained results, this verified 100 % of incidence of the illness in all the varieties, while that, the mayor percentage of severity presented the varieties Bourbon in Santa Rufina (72 %) and Sarchimor of the Hacienda Cristal (62,28 %). On the other hand, I got three morphotypes of *M. citricolor* from the six isolates of the coffee varieties; they were groups according with their morphocultural characteristics. With respect to the five isolates *Trichoderma* applied in cultivate duals, the isolate G8CTM4 was the one that most inhibited the growth of the pathogenic fungus in the three morphotypes of *M. citricolor*, likewise, the five isolates *Trichoderma* in the three concentrations grew on the disc of *M. citricolor*, getting to inhibit the growth of the pathogen.

Key words: Characterization, control, *M. citricolor*, morphotype, *Trichoderma*.

3. INTRODUCCIÓN

El cultivo de café es uno de los productos más importantes a nivel mundial, debido a que contribuye tanto a la economía de los países exportadores como importadores, proporcionando un medio de vida a más de 25 millones de agricultores y familias. De acuerdo con las cifras de la Organización Internacional de café (ICO) en el 2018 la producción total de los países exportadores fue de 168,09 millones de sacos de 60 kilogramos (ICO, 2019).

En Ecuador, a igual que en otros países de América Latina, el café es uno de los productos que genera ingresos económicos y empleo a las familias ecuatorianas. En el territorio nacional, según el Instituto Nacional de Estadísticas y Censos (INEC, 2020) la superficie plantada de café fue de 34 789 ha y una producción de 5 032 Tm. Dentro de la región Sierra, la provincia de Loja ocupa el primer lugar con mayor superficie de café, de las cuales 3 018 ha es exclusivamente solo café y 283 ha se encuentra asociado.

En los últimos años, en Ecuador se ha visto una disminución en la producción del cultivo de café, de tal manera que las principales causas de la baja productividad de los cultivos se deben en su mayor parte al envejecimiento de las plantaciones, la falta de capacitación y problemas fitosanitarios (Espinoza, 2017). Las enfermedades fúngicas para considerar en las zonas cafetaleras de Ecuador son: Roya anaranjada (*Hemileia vastatrix*), Ojo de gallo (*Mycena citricolor*) y Macha de hierro (*Cercospora coffeicola*) (Pozo,2014).

En la provincia de Loja una de las principales enfermedades que afecta a los cafetales es el ojo de gallo (Bustamante, 2013). Castillo (2016), encontró un 30 % de la plantación cafetalera con presencia de ojo de gallo en la parroquia de San Antonio de las Aradas del cantón Quilanga de la provincia de Loja, por lo que concluyó que un buen manejo integrado de la enfermedad permitirá mejorar los rendimientos productivos.

La enfermedad ojo de gallo, afecta especialmente a plantaciones de café localizadas por arriba de los 700 m s.n.m., con exceso de sombra, temperaturas bajas, con alta humedad y precipitación (Villaseñor, 1987; González, 2003). Esta enfermedad afecta a hojas, frutos y tallos. Inicialmente, se manifiesta en manchas circulares de color marrón oscuro en las hojas, tornándose a color marrón grisáceo. El principal daño en la planta es la defoliación, lo que genera la reducción del área fotosintética, comprometiendo su desarrollo y producción (Lizardo y Trejo, 2020). Barquero (2011), menciona que con incidencia inicial del 20 % puede sufrir pérdidas de producción en torno al 60 %.

En la actualidad para controlar el ojo de gallo en café se utiliza el control químico con fungicidas cúpricos como propineb (Antracol WP 70) y el triadimenol (Bayfidan DC 250) (Rivillas y Castro, 2011), sin embargo, el uso indiscriminado de fungicidas causa daños al hombre y al medio ambiente (Puerto *et al.*, 2014). Ante tal situación, en los últimos años se han venido buscando alternativas de control biológico para el manejo de la enfermedad ojo de gallo. Para lo cual, una opción sería la utilización de microorganismos antagonistas, los cuales son capaces de disminuir la actividad del agente fitopatógeno (Pal y McSpadden, 2006). En la naturaleza existen especies de hongos y bacterias que actúan como biocontroladores de algunas enfermedades, entre ellos podemos mencionar al género *Trichoderma* spp., el cual induce un efecto antibiótico mediante la activación de diversos mecanismos de acción mediante producción de enzimas, micoparasitismo, competencia por espacio y nutrientes (Martínez *et al.*, 2017).

En ese contexto se plantearon los siguientes objetivos:

Objetivo general

- Evaluar el control biológico del ojo de gallo (*Mycena citricolor* Berk. & Curt.) en café con *Trichoderma* spp. bajo condiciones de laboratorio.

Objetivos específicos

- Identificar la incidencia y severidad de hongo *Mycena citricolor* en dos sectores de los cantones Chaguarpamba y Loja.
- Identificar las características morfo culturales de los aislados de *Mycena citricolor* recolectadas en dos sectores de los cantones Chaguarpamba y Loja.
- Evaluar el efecto de cinco aislados de *Trichoderma* spp, mediante diferentes concentraciones en el control de ojo de gallo (*Mycena citricolor* Berk. & Curt.) en café, bajo condiciones de laboratorio.

4. MARCO TEÓRICO

4.1. Generalidades del café

La caficultura en Ecuador es de gran interés a nivel social, económica y ecológica. La importancia social y económica consiste en la generación de empleo para 105 000 familias de productores; así mismo para familias relacionadas con los procesos de comercialización, industrialización, transporte y exportación. La importancia ecológica se basa en la capacidad de adaptación de los cafetales a los diferentes agroecosistemas de las cuatro regiones del país: Costa, Sierra, Amazonia e Islas Galápagos (Venegas *et al.*, 2018).

4.1.1. Origen y distribución

El café arábigo tuvo su origen en Etiopia y Sudan, situada a más de 1 000 m s.n.m. En los años 575 y 980, los árabes y los persas lo llevaron a Arabia y Yemen, por otra parte, los africanos lo dispersaron por Mozambique y Madagascar (Alvarado y Rojas, 1994).

El café arábigo llegó a América en 1714 procedente de Holanda. En 1720 se introdujo desde Francia a la isla Martinica y desde aquí se dispersó a México, Colombia, Venezuela, Brasil y Centroamérica en los posteriores 60 años. Al Ecuador llegó en 1830, comenzándose a cultivar en la provincia de Manabí, en el cantón Jipijapa (Amores *et al.*, 2004).

4.1.2. Zonas del cultivo de café en el Ecuador

El Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias [INIAP], (2014) menciona que en Ecuador las principales zonas cafetaleras se encuentran en las provincias de Manabí, Loja, Orellana, Sucumbíos, Guayas, Los Ríos, Esmeraldas, Pichincha, El Oro, Cotopaxi, Azuay, Imbabura, Carchi, Chimborazo, Cañar, Morona Santiago y Zamora Chinchipe.

4.2. Principales enfermedades del café

Las enfermedades que se dan en el cultivo de café son causadas en su mayor parte por hongos. Las de gran importancia económica son: la roya (*Hemileia vastatrix* Berk y Br), mancha de hierro (*Cercospora coffeicola* Berk y Cooke), ojo de gallo (*Mycena citricolor* Berk. y Curt) y quema o derrite de las hojas del café (*Phoma costarricensis* Echandi) (Leyva, 2018).

4.3. Ojo de gallo en café

4.3.1. Origen del ojo de gallo en café.

La enfermedad ojo de gallo conocida como gotera o candelilla fue vista por primera vez en Colombia por Mishelsen en 1980. Cooke en 1881, reconoció al hongo *Stribum flavidum* en hojas de café procedentes de Costa Rica y Venezuela, a partir de entonces, se ha observado en las zonas cafetaleras del continente americano (Gil *et al.*, 2003). *Mycena citricolor* es una de las pocas enfermedades originarias de América de gran importancia económica, desde México y el Caribe hasta Brasil y Bolivia (Ángel *et al.*, 2018).

4.3.2. Taxonómica de *M. citricolor*

Reino: Fungí

Phylum: Basidiomycota

Clase: Agaricomycetes

Orden: Agaricales

Familia: Mycenaceae

Género: *Mycena*

Especie:

Fase imperfecta: *Omphalia flavida* Maublanc y Rangel

Fase perfecta: *Mycena citricolor* Berkeley y Curtis (Kirk *et al.*, 2008)

4.3.3. Morfología

Estado anamorfo

Cuando se dan las condiciones ambientales adecuadas para el hongo, se observa estructuras pequeñas de color amarillo aparecidas a alfileres las cuales aparecen en las lesiones. Esta estructura presenta dos partes un pedicelo y una cabeza que al madurar se desprende del pedicelo, particularmente con el impacto de la lluvia. Cuando el hongo está expuesto a la presencia de luz con onda de 310-400 nm se da la máxima producción de cabecitas y pigmento amarillo de las mismas (Rodríguez ,1965; Rivillas y Castro, 2011).

Estado teleomorfo

Generalmente es difícil de encontrar este estado en el campo y no tienen mucha importancia en el desarrollo de esta enfermedad (Borbón, 1999). Los basidiocarpos son más grandes que las estructuras reproductivas de la fase asexual, se los reconoce porque presentan forma de sombrillas, de color amarillo intenso y miden entre 0,5 y 1,0 mm de diámetro (Rivillas y Castro, 2011). Estos cuerpos aparecen en hojas y frutos de café que cayeron sobre el suelo. Sin embargo, al haber un ambiente húmedo hay una rápida descomposición del material enfermo que se deposita en el suelo. Por otra parte, los microorganismos en el ambiente y parásitos evitan el apareamiento de estas estructuras (Orozco y Calderón, 2009).

4.3.4. Condiciones climáticas para el desarrollo *M. citricolor*

Para que ocurra la enfermedad se requiere de condiciones con alta humedad relativa superior al 80 %, temperaturas frescas de 17- 22 °C, condiciones de lluvia por largos periodos de tiempo (Lizardo y Trejo, 2020). Precipitaciones superiores de 15 mm, altas densidades de siembra y sombra densa. El patógeno requiere de 18 a 25 horas de alta humedad y baja luz difusa, para iniciar a producir nuevas infecciones, pero, el período de formación lleva aproximadamente 8 días (Wang, 1994).

4.3.5. Etapas del ciclo de vida del ojo de gallo

4.3.5.1. Etapa de sobrevivencia del hongo

El patógeno permanece en lesiones propias de la enfermedad en las plantas de café afectadas el año anterior. Otra forma en que sobrevive el hongo es en las plantas arvenses, helechos y árboles de sombra que crecen en los cafetales (Orozco y Calderón, 2009).

4.3.5.2. Etapa de germinación del hongo

Las estructuras reproductivas del hongo se desprenden y caen en tejido foliar sano (Lizardo y Trejo, 2020). Estas se dispersan principalmente por las lluvias y el viento (Castro y Rivillas, 2011). Cuando la estructura reproductiva del hongo entra en contacto con las hojas o tallos jóvenes de cafetos; en pocas horas, empieza la germinación de estas estructuras reproductivas con la emisión de hifa del hongo sobre el tejido de la planta de café (Orozco y Calderón, 2009).

4.3.5.3. Fructificación de nuevas lesiones

Cuando las lluvias aumentan se da la presencia de lesiones secundarias de color marrón de diferentes formas, producto de la producción de estructuras reproductivas iniciales. Durante esta etapa se puede ver la defoliación de los cafetos. Por otra parte, cuando la defoliación es severa el ataque del hongo continúa en frutos y tallos jóvenes (Orozco y Calderón, 2009).

4.3.5.4. Final del ciclo de la enfermedad e inóculo residual

Al terminar la época lluviosa, la temperatura incrementa, la humedad disminuye, hay mayor ventilación y menos horas de mojado foliar. Este ambiente es desfavorable al desarrollo del hongo y por consiguiente se detiene la producción de estructuras reproductivas asexuales. Las hojas con lesiones de color marrón se tornan a gris ceniciento y esto constituye el inóculo sobrante que iniciará la enfermedad el próximo año. En plantaciones de café con altitudes de 1600 m s.n.m. y con alta humedad, el patógeno continúa produciendo estructuras reproductivas con él roció de la mañana (Orozco y Calderón, 2009).

4.3.6. Sintomatología

El hongo patógeno ataca a hojas jóvenes y maduras, brotes nuevos, frutos en diferentes estados de desarrollo, ramas y tallos (Rivillas y Castro, 2011). Inicia con manchas circulares de color marrón oscuro en el haz de las hojas, tornándose a color marrón grisáceo conforme el hongo se va desarrollando, mide de 5-13 mm de diámetro y generalmente son de forma circular, no obstante, pueden ser de forma irregular cuando está delimitada por las nervaduras de la hoja. Los bordes de la lesión son bien definidos observándose por el haz y el envés. Sobre las lesiones pueden verse a simple vista varios filamentos provistos de una cabezuela en el ápice de cada uno, que corresponde a las estructuras reproductivas del hongo denominado geminíferos (Lizardo y Trejo, 2020). Ángel *et al.*, (2018) señalan que, las lesiones terminan necrosando y destruyendo los tejidos de brotes, ramas y frutos o dejando un agujero en medio del tejido verde de las hojas. Gil *et al.*, (2003) afirman que, en las ramas las lesiones son alargadas y en frutos son redondas, hundidas y diferente tamaño.

4.3.7. Daños

Los daños ocasionados en las plantas de café son la defoliación severa de las hojas viejas y jóvenes, caída prematura de frutos de diferentes edades o estado de desarrollo, muerte de brotes, ramas principales y secundarias, así como de tallos y hasta de plantas completas. Genera

pérdidas variables en producción, entre el 20% y 90%, afectando el crecimiento de las plantas e inestabilidad en los ciclos de producción y renovación, afectando la sostenibilidad y rentabilidad de las empresas cafetaleras (Rivillas y Castro, 2011).

4.3.8. Variedades de café susceptibles al ojo de gallo

Avelino (2007), indica que existen variedades de *Coffea arabica* susceptibles al ataque de *M. citricolor* y algunas variedades derivadas del Híbrido de Timor. También se ha evidenciado mayores ataques en Catimor que en otras variedades. Lizardo y Trejo (2020), señala que los resultados de evaluación de resistencia genética de las variedades tradicionales de Honduras durante el 2018 en condiciones de laboratorio encontraron que las variedades Catuaí, Caturra y Pocas presentaron menos desarrollo de lesiones necróticas que las variedades de origen Sarchimor y Catimor.

4.3.9. Control del ojo de gallo

Control cultural

Se recomienda regular la sombra, podas que permitirá eliminar tejidos enfermos y mejorar la ventilación, mayor distanciamiento de siembra y controlar malezas (Lizardo y Trejo, 2020). Maldonado *et al.*, (2014), menciona que, en un estudio realizado en Oaxaca, México para medir el efecto de la cobertura arbórea manifestó que el ojo de gallo presenta mayor incidencia con coberteras mayores, en densidades de sombra alta (> 75 %), media (46-75 %) y baja (< 46 %).

Control químico

El control con fungicidas debe empezar cuando la infección sea por debajo del 10 %, por lo tanto, la primera aplicación debe iniciar cuando las incidencias son bajas y realizar al menos 3 pulverizaciones en este periodo, con la finalidad de eliminar parte del inóculo existente y proteger el follaje contra nuevas infecciones (Orozco *et al.*, 2010; Lizardo y Trejo, 2020) Los fungicidas para utilizar son de los grupos triazoles, estrobilurinas y carboxamidas, además se han obtenido resultados eficientes al incorporar fungicida antibiótico validamicina en mezcla con triazoles (Lizardo y Trejo, 2020).

Control biológico

Vargas, (1984); Wang y Avelino, (1999); Gallagher, (2012) encontraron que *Trichoderma* spp inhibe la formación de la estructura asexual del hongo patógeno y utiliza las ya formadas como sustrato de crecimiento, sin embargo, el hongo por sí solo no es suficiente para eliminar los geminíferos. Khan *et al.*, (2020) indican la efectividad antagónica de *T. longibrachiatum* Rifai, debido a una mezcla de metabolitos secundarios que causan lisis de las hifas del patógeno. Mora *et al.*, (1989), señala la capacidad antagónica de aislamientos bacterianos en cafetales con presencia de *Mycena citricolor*, observo la destrucción de las estructuras reproductivas después de la inoculación con la suspensión bacteriana. Calvo y Vargas (1989), llevaron estos resultados a campo donde encontraron que la bacteria aislada del filoplano de hojas sanas de plantaciones de café variedad Caturra, parasita las estructuras reproductivas y micelio de *O. flavida* en 48 horas, pero que, en ausencia de estas estructuras reproductivas, se mantiene en poblaciones bajas en el filoplano.

4.4. Características generales de *Trichoderma*

4.4.1. Taxonomía del género *Trichoderma*

Reino: Fungí

División: Ascomycota

Subdivisión: Pezizomycotina

Clase: Sordariomycetes,

Orden: Hypocreales

Familia: Hypocraceae

Género: *Trichoderma* e *Hipocrena* (Sánchez, *et al.*, 2018)

De todas las especies de *Trichoderma* las más destacadas de este género son *T. harzianum*, *T. viride*, *T. koningii* y *T. hamatum*, estas presentan efectos benéficos en el control de hongos fitopatógenos y son las de mayor aplicación en la agricultura (Companiononi *et al.*, 2019)

4.4.2. Caracterización del género *Trichoderma*

Son hongos anaerobios facultativos y se encuentra distribuidos en todo el mundo invadiendo material celulósico y rizosfera de las plantas (Schimoll *et al.*, 2010; Martínez *et al.*, 2013; Bissett *et al.*, 2015).

Trichoderma es uno de los hongos antagonistas más empleados en campo de la agricultura debido a que tiene múltiples mecanismos de acción para el control de fitopatógenos, además de brindar resistencia sistemática de la planta hospedera (Howell, 2005).

El género *Trichoderma* se caracteriza por presentar en el medio de cultivo una coloración blanca-verde-amarillosa, sin embargo, en el anverso se observa una coloración amarilla, ámbar o amarilla-verdosa. Dentro de sus características microscópicas se encuentran tres tipos de propágulos conocidos como hifas, clamidosporas y conidios hialinos no verticilados. Las clamidosporas suelen ser globosas a subglobosas, terminales a intercalares de tono verde y sus medidas son menores a 15 µm de diámetro, los conidios miden de 2 a 3 µm de diámetro en promedio son de forma redonda u ovoide, lisos y se observan hialinos o de color verde brillante en el microscopio (Chaverri *et al.*, 2003).

4.4.3. Mecanismos de acción del género *Trichoderma*

Trichoderma posee mecanismos de acción, los cuales son el micoparasitismo, el antagonismo, la antibiosis y la competencia por espacio y nutrientes los que tiene una acción directa frente al hongo fitopatógeno. Estos mecanismos se ven favorecido por la habilidad de los aislamientos de *Trichoderma* por colonizar la rizosfera de las plantas (Infante *et al.*, 2009). En el proceso de micoparasitismo, *Trichoderma* secreta enzimas que hidrolizan la pared celular de los hongos que parasitan, siendo las más conocidas las quitinasas, las glucanasas y las proteasas (Marcello *et al.*, 2010; García- Espejo *et al.*, 2016). Durante el proceso de micoparasitismo *Trichoderma* se adhieren a las hifas del patógeno enrollándose en ellas frecuentemente y penetrando en ocasiones (Carsolio *et al.*, 1999).

4.5. Información referente al tema de investigación

Pacheco (2012), en su trabajo epidemiología de la enfermedad ojo de gallo del café (*Coffea arabica*) causada por el hongo *Mycena citricolor* Berk. & Curt. en el área occidental de Guatemala, C.A, determino que, en cafetales ubicados a más de 1 000 m de altitud, son los más afectados por el ojo de gallo y menciona que en esa altitud tuvo una incidencia de 100 % y la

severidad entre 12,08 % a 76,56 %. En el estrato de producción de café aproximadamente de 1 000 m la enfermedad fue menor con máximo de 59 % de incidencia y 13,33% de severidad y en café situado en altitud menor a 700 m se tuvo un máximo de 52 % de incidencia y 10,20 % de severidad en plantas.

Ortiz *et al.*, (2014), en su trabajo etiología, incidencia y severidad de enfermedades fungosas foliares del cultivo de café, concluyeron que al muestrear 13 huertas cafetaleras encontraron que en la huerta 13 hubo plantas que presentaba un 46 % de la enfermedad, mientras que la severidad fue mayor en la huerta 11 que presentaba el 60 % de tejido dañado.

Yujra (2016), realizó un estudio sobre el establecimiento de plantaciones de café (*Coffea arabica* L.) variedad catuai rojo, bajo sistema agroforestales en tres comunidades de la quinta sección del municipio La Asunta Sud Yungas de la Paz, donde concluyo que una de las principales enfermedades que afecta al cultivo de café es el ojo de gallo, la cual presentó una incidencia del 40 % de la enfermedad, provocado una defoliación severa en las plantas de café, a tal punto de provocar la pérdida de la producción y rendimientos hasta en un 50 %.

Carhuavilca (2011), en su trabajo evaluación de la eficacia de especies de *Trichoderma* spp en el control del ojo de pollo del café, en la provincia de La Convención, concluyo que *Trichoderma viride* presentó el mejor resultado con el menor incremento de incidencia o inocúlalo de ojo de gallo con un 5.88 % en la parcela demostrativa. Además, observo que la especie más eficiente para el control de *M. citricolor*, es la combinación de *Trichoderma harzianum* y *Trichoderma viride* presentando una reducción del 35,62 %.

Castro y Rivillas (2006), en su trabajo de investigación antagonismo “*in vitro*” de *Trichoderma harzianum* sobre hongos patógenos de café, observaron que en condiciones de laboratorio *Trichoderma harzianum*, presento un alto efecto antagónico, inhibiendo el crecimiento y esporulado sobre el hongo *M. citricolor*.

Según Ojeda y Suèscum (2012), en su trabajo evaluación de cinco cepas de hongos nativos como controladores biológicos de la enfermedad “Ojo de gallo” (*Mycena citricolor*) en café (*Coffea arabica*) en condiciones *in vitro*, mencionaron que *Trichoderma harzianum* presenta un antagonismo escala 1 (70%) y escala 2 (30%) en el cual, este hongo crece por completo sobre el *M. citricolor* y cubre las 2/3 partes de la superficie del medio.

5. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1. Ubicación del estudio

5.1.1. Fase de campo

Se realizó en dos sectores de la provincia de Loja: Sector 1: Hacienda Cristal, parroquia Malacatos, cantón Loja y Sector 2: Comunidad Y del Guineo, parroquia Santa Rufina, cantón Chaguarpamba.

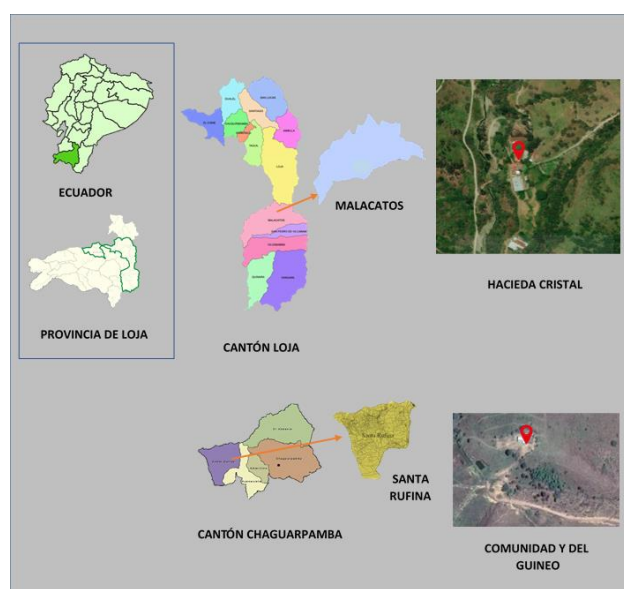


Figura 1. Sectores de estudio en la provincia de Loja

Elaborado por: La Autora

5.1.1.1. Características de los sectores de estudio

- **Loja (Malacatos)**

Se realizó en la hacienda Cristal en el sector Pueblo Nuevo de la parroquia Malacatos, perteneciente al cantón Loja, geográficamente se ubica a una latitud de $4^{\circ}07'5.48''S$, una longitud de $79^{\circ}11'57.55''O$ y una altitud de 1 994 m s.n.m. El sector presenta una temperatura de $17,1^{\circ}C$ y precipitación de 1 200 mm distribuidos en todo el año (Córdova, 2016). Burneo (2020), indica que, el clima es templado lluvioso, influenciado por la vegetación local y las condiciones climáticas amazónicas. Presenta suelos con condiciones únicas para el desarrollo de la agricultura y árboles forestales, poseen una textura franca arcillo limosa y franco-arcillosa, con un pH ácido de 4,7 y el contenido de materia orgánica es de 5,65 %.

- **Chaguarpamba (Santa Rufina)**

Se realizó en una finca de la comunidad Y del Guineo de la parroquia Santa Rufina, perteneciente al cantón Chaguarpamba, geográficamente se ubica a una latitud de 3°50'49.80"S, una longitud de 79°48'14.86"O y una altitud de 579 m s.n.m. Su clima es tropical con temperaturas mínimas de 18 °C y máxima de 28 °C y una precipitación media anual de 1626 mm (Mora, 2013). En la parroquia Santa Rufina se han encontrado los siguientes tipos de suelos: arcillosos, poco arenosos-arcillosos y fértiles para la agricultura. El tipo de suelo característico en la comunidad Y del Guineo es ENTISOL (Villafuerte, 2015).

5.1.2. Fase laboratorio

El estudio se desarrolló en el laboratorio de Sanidad Vegetal de la Universidad Nacional de Loja, ubicada en el barrio la Argelia; parroquia Punzara, perteneciente a la provincia de Loja, en el sur de Ecuador, geográficamente se ubica a una latitud de 04° 08' 55"S, una longitud de 79° 20' 32"O y una altitud de 2 140 m s.n.m (Duarte, 2015).

5.2. MATERIALES

5.2.1. Materiales de campo

Tarrinas plásticas, servilletas, podadora, escala de severidad, lupa, marcadores, lápiz y libreta de campo.

5.2.2. Materiales de laboratorio

- **Materiales y reactivos**

Cajas de Petri, porta y cubre objetos, tubos de ensayo, varilla de agitación, vasos de precipitación, agujas quirúrgicas, pinzas, bisturí, saca bocados, probetas graduadas, algodón, papel filtro, cámara de Neubauer, ligas, papel periódico, medios de cultivo PDA (papa, dextrosa y agar), PDA + 2% levadura, azul de metileno 1 %, alcohol potable e industrial, hipoclorito de sodio 1 %.

- **Equipo**

Autoclave, balanza digital de precisión, baño de María, cámara digital, cámara de flujo laminar, destilador de agua, estéreo microscopio, microondas, incubadoras, lámparas de alcohol, microscopio, microondas y plato caliente con agitador magnético.

5.3.MÉTODOS

5.3.1. Metodología para el primer objetivo

“Identificar la incidencia y severidad del hongo *Mycena citricolor* en dos sectores de los cantones Chaguarpamba y Loja”

Se recorrió los cafetales de dos sectores de la provincia de Loja: Sector 1: Malacatos (Hacienda Cristal) y Sector 2: Santa Rufina (Comunidad Y del Guineo). En cada Sector se determinó que variedades de café presentaban la enfermedad del ojo de gallo (Tabla 1) y de esta manera se continuó para determinar la incidencia y severidad.

Tabla 1. Variedades de café con presencia de *M. citricolor* en dos sectores de la provincia de Loja

Sector	Lugar	Variedad
Malacatos	Hacienda Cristal	Colombia 6
		Típica
		Bourbon
		Caturra Amarilla
Santa Rufina	Y del Guineo	Sarchimor
		Bourbon

5.3.1.1. Incidencia

Para conocer la incidencia de la enfermedad ojo de gallo, se procedió a muestrear el 1 % de plantas de cada variedad, tomando como referencia la densidad de siembra y el número total de plantas. Seguidamente, se observó y contó las plantas infectadas de total de plantas muestreadas y se procedió a determinar el porcentaje de incidencia utilizando la siguiente fórmula (Cooke, 2006).

$$\text{Incidencia (\%)} = \frac{(\text{N}^\circ \text{ de plantas infectadas})}{(\text{N}^\circ \text{ total de plantas muestreadas})} \times 100$$

5.3.1.2. Severidad

Para determinar la severidad de la enfermedad ojo de gallo, se procedió a muestrear el 1 % de plantas de cada variedad, tomando como referencia la densidad de siembra y el número total de plantas. Se seleccionó de cada planta una rama del tercio medio y se evaluó al azar 10 hojas. Se utilizó una escala cualitativa elaborado por Leal (2011) y modificada por Pereira (2021), en la que se consideró el daño foliar de cada planta. La severidad se calculará con la siguiente fórmula (Townsend y Heuberger, 1943).

$$\text{Severidad (\%)} = \frac{\sum(a \times b)}{(N \times K)} \times 100$$

S (%) = Severidad

a = Total de plantas en cada grado de la escala

b = grado de la escala correspondiente;

N = número total de plantas evaluadas

K = grado máximo de la escala

Tabla 2. Escala de evaluación de la severidad de *Mycena citricolor*.

Clase	Severidad
0	0 %
1	0.01- 10.30 %
2	10.31 – 21.30 %
3	22.31 – 32.33 %
4	32.24 – 43.30 %
5	43.31 – 55 %
6	mayor a 56 %








						
0 %	0.01- 10.30 %	10.31 – 21.30 %	22.31 – 32.33 %	32.24 – 43.30 %	43.31 – 55 %	> 56 %

Figura 2. Escala de severidad de *M. citricolor* Leal (2011) y Pereira (2021).

5.3.2. Metodología para el segundo objetivo.

“Identificar las características morfo-culturales de los aislados de *Mycena citricolor* recolectadas en dos sectores de los cantones Chaguarpamba y Loja”

5.3.2.1. Recolección de muestras

Las muestras de *Mycena citricolor* se recogieron en dos sectores de la provincia de Loja, Sector 1: Malacatos y Sector 2: Santa Rufina, se muestreó cada variedad y se recolectó hojas que presentaban sintomatología de la enfermedad, cada muestra recolectada se colocó en contenedores plásticos con servilletas humedecidas y se etiquetó con el nombre de la variedad para luego ser transportadas al laboratorio de Sanidad Vegetal de la Universidad Nacional de Loja, donde se las conservo en el refrigerador a 4 °C.

5.3.2.2. Preparación de medio de cultivo

Se realizaron dos medios de cultivo para el aislamiento del patógeno.

- 1) PDA (Papa 200 g, Dextrosa 10 g, Agar 17 g) (Cañedo, 2004).
- 2) PDA + 2% levadura (Papa 200 g, Dextrosa 20 g, Agar 17 g, 20 g levadura) (Granados, 2015).

Para esterilizar los medios de cultivo se los llevó a la autoclave durante 15 minutos a 15 libras de presión (Cañedo, 2004).

5.3.2.3. Aislamiento de *M. citricolor*

Para realizar el aislamiento del hongo patógeno se tomaron hojas infectadas que presentaban la estructura asexual del hongo, seguidamente con ayuda de una pinza de punta fina se tomó la estructura reproductiva, la cual fue lavada con agua destilada durante un minuto, se desinfectó en alcohol al 70 % por treinta segundos, se lavó nuevamente en agua destilada por un minuto para luego desinfectarla en hipoclorito de sodio al 1 % por un minuto y finalmente se lavó en agua destilada por 1 minuto (Arciniegas, 2021). Se procedió a secar con papel filtro el agua destilada que se impregnó en la pinza con la estructura reproductiva durante la desinfección y se sembró la estructura asexual en uno de los cuatro puntos marcados en una caja Petri con los medios de cultivos anteriormente mencionados. Sembradas las cuatro estructuras reproductivas en una caja Petri, se selló y llevo a la incubadora a 25 °C ± 1 sin luz para estimular el crecimiento (García, 2012). Se revisó cada 24 horas y se procedió a repicar. Se realizó el mismo procedimiento para aislar el patógeno de las seis variedades de café infectadas por ojo de gallo.

5.3.2.4. Caracterización morfocultural de *M. citricolor*

Se utilizaron seis aislados de *Mycena citricolor* obtenidos de las muestras de las variedades de café, se tomó un disco de 10 mm de diámetro y se colocó el centro de una caja Petri con medio

de cultivo PDA. A continuación, se sellaron y se las llevó a la incubadora a $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1$ por 10 días. Se utilizó un diseño completamente al azar, con cuatro repeticiones por cada aislamiento, los cuales fueron: **A1** (Típica-Malacatos), **A2** (Sarchimor-Malacatos), **A3** (Caturra amarilla-Malacatos), **A4** (Colombia 6-Malacatos), **A5** (Bourbon-Malacatos) y **A6** (Bourbon-Santa Rufina).

La caracterización macroscópica, se realizó tomando los descriptores referenciados por García, (2012), que se indican a continuación.

- **Color de micelio de *M. citricolor***

El color del micelio se describió utilizando la tabla de colores Munsell (1975). Se evaluó después de diez días de la inoculación del hongo en cajas Petri con medio de cultivo PDA.

- **Apariencia del micelio de *M. citricolor***

Para determinar la apariencia del micelio, nos guiamos en los criterios referenciados por García (2012), donde el micelio corresponde a: a) ramificado; b) anillado y ramificado c) anillado, algodonoso y ramificado, d) micelio algodonoso. Estas características se observaron diez días después de la inoculación del hongo en medio de cultivo PDA.

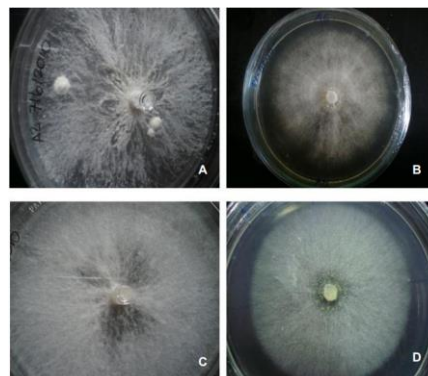


Figura 3. Apariencia del micelio de *M. citricolor* García, (2012).

- **Pigmentación sobre el medio de cultivo**

Se evaluó visualmente, la pigmentación que se formó sobre el medio de cultivo. Se observó después de diez días de la inoculación del hongo.

- **Días a la conformación de la colonia**

Se evaluó los días que tarda el hongo patógeno en llenar la caja Petri con medio de cultivo PDA.

- **Crecimiento micelial de *M. citricolor***

Las mediciones del diámetro de crecimiento micelial se iniciaron a las 24 horas después de la inoculación en medio PDA, durante 10 días.

Caracterización microscópica

Se realizaron microcultivos de los seis aislamientos de *Mycena citricolor*, para determinar el tipo de hifas que presentaba el hongo patógeno. Para su realización se colocó un disco de papel filtro dentro de una caja de Petri y sobre este dos portaobjetos en cruz, se depositó agua destilada sobre el papel filtro para mantener la humedad y se colocó una gota de medio de cultivo sobre los cubre objetos, con la ayuda de una aguja se procedió a coger micelio del patógeno y se sembró en la gota de medio de cultivo, finalmente se selló y se llevó a la incubadora a $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1$. Se hicieron las observaciones de las estructuras a las 24 horas en el microscopio Olympus CX3 cámara MC500-W y se capturaron las imágenes con el software de procesamiento de imágenes Micro Cam.

5.3.2.5. Caracterización morfológica de estructuras reproductivas de *M. citricolor*

- **Estructuras reproductivas *in vitro* de *Mycena citricolor***

La producción de estructuras reproductivas *in vitro* se realizó con los seis aislamientos de *Mycena citricolor*, se colocó un disco de 5 mm de diámetro del hongo patógeno en el centro de una caja Petri con medio de cultivo PDA. A continuación, se selló y se llevó a la incubadora a $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1$, con periodos de 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad (García, 2012). Se utilizó un diseño completamente al azar, con tres repeticiones por cada aislamiento.

Se evaluó el número de días y condiciones *in vitro* que el hongo necesita para desarrollar la fase asexual, también se cuantificó la producción de estructuras reproductivas seleccionando áreas de 1 cm² en medio de cultivo a los 20 días después de la inoculación de hongo (García, 2012). Los aislados se observaron en el estereomicroscopio Olympus SZX7 con cámara AZX-PHA y el programa cellSens Standard. Por otra parte, se tomaron fotos a cada aislamiento y se utilizó el programa Imagen J para medir el área en cm² que ocuparon las estructuras reproductivas producidas en el medio de cultivo.

- **Medición de estructuras reproductivas de *M. citricolor* desarrolladas en campo e *in vitro***

Se tomó la medida de 20 estructuras reproductivas desarrolladas en condiciones naturales (campo) de cada variedad y de las estructuras reproductivas desarrolladas en condiciones *in vitro*, se observó en el estereomicroscopio Olympus SZX7 cámara SC50 y se capturó las imágenes en el software de procesamiento de imágenes cellsens Standard, se midió en milímetros el diámetro de la cabeza de la estructura reproductiva, longitud del pedicelo y longitud total de la estructura reproductiva, según la metodología descrita por Ojeda y Suéscum, (2012).

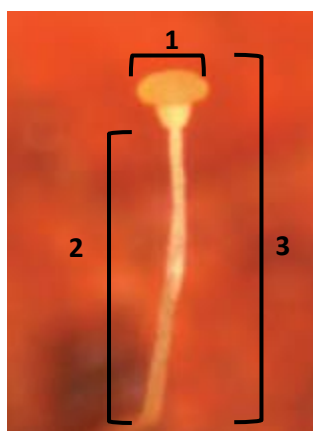


Figura 4. Estructura reproductiva de *M. citricolor*. **1=** diámetro de cabeza de la estructura reproductiva, **2=** longitud del pedicelo y **3=** longitud total de la estructura reproductiva

Fuente: Rivillas y Castro, (2011)

5.3.3. Metodología para el tercer objetivo:

“Evaluar el efecto de cinco aislados de Trichoderma spp, mediante diferentes concentraciones en el control de ojo de gallo (Mycena citricolor Berk. & Curt.) en café, bajo condiciones de laboratorio”

Dentro de este objetivo se realizaron dos ensayos para evaluar el control del ojo de gallo con *Trichoderma*, el primero mediante ensayo dual y el otro mediante diferentes concentraciones de *Trichoderma*.

5.3.3.1.Reactivación de Aislados de Trichoderma spp

Se utilizó 4 aislados de *Trichoderma* spp, proporcionados por el laboratorio de Sanidad Vegetal de la Universidad Nacional de Loja, los cuales fueron obtenidos de diferente lugar de procedencia y un aislado de *Trichoderma harzianum* de un comercial (Bio-Trich), estos

aislados de *Trichoderma* spp se describen en la Tabla 3. Se empezó repicando los 4 aislados de *Trichoderma* almacenados en el laboratorio y sembraron en medio de cultivo PDA y se incubó a 25 °C ± 1 y de igual forma se procedió a sembrar *T. harzianum* del producto comercial.

Tabla 3. Aislados de *Trichoderma* identificados por lugar de procedencia

Código de procedencia	Especie	Procedencia
SF2b	<i>Trichoderma</i> sp	San Francisco, Catamayo, Loja.
C3-OPL-Tvir	<i>Trichoderma</i> sp	Obra Pía, Loja, Loja.
G8-CTM4	<i>Trichoderma</i> sp	El Tambo, Catamayo, Loja.
T3TkT19	<i>Trichoderma</i> sp	El Tambo, Catamayo, Loja.
Bio-Trich (Comercial)	<i>T. harzianum</i>	Guayaquil-Ecuador

5.3.3.2. Enfrentamientos duales de *Mycena citricolor* y *Trichoderma* spp

Se utilizó un diseño completamente al azar (DCA), con veintiuno tratamientos y diez repeticiones: un testigo absoluto, un fungicida químico EVITO T (Fluoxastrobin + Tebuconazole), una aislado de *Trichoderma harzianum* de producto comercial (Bio-Trich) y cuatro aislados de *Trichoderma* spp del Laboratorio de Sanidad Vegetal, se realizó este diseño con los tres morfotipos de *Mycena citricolor* obtenidos del objetivo 2. Los tratamientos evaluados se describen en el Tabla 4.

Tabla 4. Tratamientos evaluados en el ensayo de enfrentamientos duales.

Tratamiento	Descripción
T1	Fungicida químico + M1
T2	Fungicida químico + M2
T3	Fungicida químico + M3
T4	<i>T. harzianum</i> (Bio-Trich) + M1
T5	<i>T. harzianum</i> (Bio-Trich) + M2
T6	<i>T. harzianum</i> (Bio-Trich) + M3
T7	C3-OPL-Tvir + M1
T8	C3-OPL-Tvir + M2
T9	C3-OPL-Tvir + M3
T10	T3TKT19 + M1
T11	T3TKT19 + M2
T12	T3TKT19 + M3
T13	G8-CTM4 + M1
T14	G8-CTM4 + M2
T15	G8-CTM4 + M3
T16	SF2b + M1

T17	SF2b + M2
T18	SF2b + M3
T19	Testigo M1
T20	Testigo M2
T21	Testigo M3

M1 (Morfotipo 1), **M2** (Morfotipo 2) y **M3** (Morfotipo 3)

Preparación de fungicida para ensayo dual

Para el control químico con el fungicida, se procedió a realizar los cálculos considerando la densidad de siembra del cultivo, el gasto de agua que requiere en la fumigación y la dosis recomendada por el fabricante.

- Densidad de siembra entre planta 2 x 2 m
- 200 L de agua se aplica con nebulizador
- 100 cm³ 200 L

Obtenida la dosis en ml, se procedió a preparar el fungicida químico para el ensayo dual.

Se realizaron cultivos duales, en el cual se colocó un disco de 10 mm de diámetro, de la colonia de los antagonistas, como de la colonia del patógeno, enfrentados en cajas de Petri con medio de cultivo (Howell, 2003). El hongo patógeno se sembró 5 días antes que el hongo antagonista, debido a que *M. citricolor* tiene una tasa de desarrollo lenta (Castro y Rivillas 2006).

Para realizar el control químico mediante ensayo dual, se colocó un disco de 10 mm de diámetro del hongo patógeno en una caja Petri y al extremo opuesto se colocó un disco de medio de cultivo de 10 mm de diámetro sumergido en la concentración del producto químico, de igual manera el hongo patógeno se sembró 5 días antes. Además, se realizó un tratamiento testigo, en donde se colocó un disco del hongo patógeno de 10 mm de diámetro en el centro de una caja Petri con medio de cultivo PDA.

Evaluación del Biocontrol

Las evaluaciones se realizaron cada 24 h, con una regla graduada y los valores se expresaron en milímetros. Se determinó el porcentaje de inhibición de crecimiento radial (PICR) mediante la siguiente fórmula (Anoop y Bhay, 2014; Mokhtar y Dehimat, 2015).

$$\text{PICR} = \frac{(R1 - R2)}{(R1)}$$

Donde: **R1** = radio del patógeno testigo y **R2** = radio del patógeno en enfrentamiento

El criterio de la última evaluación se determinó hasta que uno de los tratamientos con *Trichoderma* llenen la caja Petri.

Para determinar el antagonismo de *Trichoderma* se empleó la escala planteada por Bell *et al.*, (1982) donde:

Tabla 5. Capacidad antagonista, de acuerdo con la escala establecida por Bell *et al.*, (1982).

Clase	Capacidad antagónica
1	El <i>Trichoderma</i> crece por completo sobre el patógeno y cubre toda la caja
2	El <i>Trichoderma</i> cubre al menos 2/3 partes de la superficie del medio respecto al fitopatógeno
3	Ambos hongos cubren la mitad de la caja
4	El patógeno cubre al menos 2/3 partes de la superficie del medio respecto al <i>Trichoderma</i> .
5	El hongo patógeno crece por completo sobre <i>Trichoderma</i> y cubre toda la caja

5.3.3.3. Efectividad de aislados de *Trichoderma* spp. sobre el crecimiento de *M. citricolor*

Siembra de *Trichoderma* en botellas

Se realizaron repiques de los 4 aislados de *Trichoderma* spp del laboratorio de Sanidad Vegetal y del aislado comercial (*T. harzianum*) en botellas planas de vidrio de 350 ml de capacidad, que contienen 50 ml de medio de cultivo PDA. Se utilizó 3 botellas para cada aislado y se realizó 12 puntos de siembra por cada botella, se selló y se incubó a $25^{\circ}\text{C} \pm 1$ por 5 días hasta que la botella este llena.

Cuantificación de esporas de *Trichoderma* spp.

De los cinco aislados de *Trichoderma* spp., se procedió a determinar la concentración de cada una, realizando una suspensión conidial en las botellas planas sembradas, para ello se procedió a colocar perlas de cristal estériles y 9 ml de agua destilada y se las agito hasta lograr que se desprendan las esporas, se procedió a colocar lo obtenido en un tubo de centrífuga de 14 ml, para colocarlo en el agitador de vórtex, obtenida la solución homogeneizada se agregó 0,1 mL de Tween 80 por 1 L de agua destilada y se colocó la solución en la cámara de Neubauer o Hematocimetro, para cuantificar en 5 cuadrados secundarios y se calculó con la siguiente fórmula:

Suma de 5C. S. x 50000 = Número de esporas/ml

Conociendo la mayor cantidad de las esporas alcanzadas en la concentración 1×10^8 , se preparó las siguientes concentraciones 1×10^6 y 1×10^7 aplicando la siguientes formulas:

$$V_i \times C_i = V_f \times C_f$$

En donde:

V_i = volumen inicial

C_i = concentración inicial

V_f = volumen final

C_f = concentración final

Diseño del ensayo de efectividad de aislados *Trichoderma* sobre *M. citricolor*

Se aplico un diseño completamente al azar con diecisiete tratamientos y cinco repeticiones por tratamiento, los cuales se describen en la Tabla 16. Se realizó este diseño para cada uno de los 3 morfotipos obtenido del objetivo 2.

Tabla 6. Tratamientos evaluados en el ensayo de biocontrol de *M. citricolor* con diferentes concentraciones de *Trichoderma* spp.

Tratamiento	Descripción
T1	<i>M. citricolor</i> + <i>T. harzianum</i> 1×10^6
T2	<i>M. citricolor</i> + <i>T. harzianum</i> 1×10^7
T3	<i>M. citricolor</i> + <i>T. harzianum</i> 1×10^8
T4	<i>M. citricolor</i> + C3-OPL-Tvir 1×10^6
T5	<i>M. citricolor</i> + C3-OPL-Tvir 1×10^7
T6	<i>M. citricolor</i> + C3-OPL-Tvir 1×10^8
T7	<i>M. citricolor</i> + T3TKT19 1×10^6
T8	<i>M. citricolor</i> + T3TKT19 1×10^7
T9	<i>M. citricolor</i> + T3TKT19 1×10^8
T10	<i>M. citricolor</i> + G8-CTM4 1×10^6
T11	<i>M. citricolor</i> + G8-CTM4 1×10^7
T12	<i>M. citricolor</i> + G8-CTM4 1×10^8
T13	<i>M. citricolor</i> + SF2b 1×10^6
T14	<i>M. citricolor</i> + SF2b 1×10^7
T15	<i>M. citricolor</i> + SF2b 1×10^8
T 16	<i>M. citricolor</i> + Fungicida químico
T17	Testigo absoluto (<i>M. citricolor</i>)

Para realizar este ensayo, se tomó un disco de 10 mm de diámetro con micelio del patógeno y lo sumergió en la concentración *Trichoderma* sp preparada anteriormente, seguidamente se

procedió a colocar el disco en el centro de una caja Petri con medio de cultivo. Así mismo, para el tratamiento testigo con el producto químico, se tomó un disco de 10 mm de diámetro con micelio del patógeno y se lo sumergió en el producto químico, para sembrarlo en el centro de una caja Petri con medio de cultivo y para el testigo de *Mycena citricolor*, se colocó el disco de 10 mm de diámetro en el centro de una caja Petri con medio de cultivo, se sellaron y llevaron a incubadora a $25^{\circ}\text{C} \pm 1$.

Las evaluaciones se realizaron cada 24 h, con una regla graduada y los valores se expresaron en milímetros. En este ensayo se evaluó el crecimiento del diámetro del antagonista sobre el micelio del patógeno cada 24 horas, hasta que una de las concentraciones de *Trichoderma* llene la caja.

5.4. Análisis estadístico

Los datos obtenidos fueron ordenados y tabulados en una hoja de cálculo de Microsoft Excel para posteriormente analizarlos en el programa estadístico InfoStat/L 2020. Se verificaron los supuestos de homogeneidad y normalidad de las varianzas y se realizaron análisis de varianza (ANAVA), asimismo, se hicieron comparaciones de medias, aplicando prueba de Tukey ($\alpha < 0.05$) para determinar si existen diferencias significativas en los tratamientos para las variables evaluadas.

Formula del Modelo de ANAVA

$$X_{ij} = \mu + \alpha_i + \varepsilon_{ij}$$

X_{ij} Valor observado

μ Media total

α_i Efecto del factor

ε_{ij} Error o residuo

6. RESULTADOS

6.1. Identificación de la incidencia y severidad del hongo *Mycena citricolor* en dos sectores de los cantones Chaguarpamba y Loja.

6.1.1. Incidencia y severidad de *M. citricolor*

En el Tabla 7, se observa el porcentaje de incidencia y severidad de cinco variedades de café de la Hacienda Cristal y una variedad de Santa Rufina, se encontró el mayor valor de severidad en la variedad Bourbon del sector de Santa Rufina con un 72 % del total de plantas muestreadas, mientras que en la Hacienda Cristal el valor mayor correspondió a la variedad Sarchimor con un 62,28 %, de igual forma, se muestra el menor valor de severidad en la variedad Colombia 6 de la Hacienda Cristal con un 36,67 %. Así mismo, se determinó el porcentaje de incidencia, donde se observó que todas las plantas evaluadas de cada variedad estaban infectadas de ojo de gallo lo que representó un 100 % de incidencia.

Tabla 7. Porcentaje de incidencia y severidad de *M. citricolor*

Lugar y Sector	Variedad	Altitud	Severidad (%)	Incidencia (%)
Hacienda Cristal- Malacatos	Colombia 6	1 994 m s.n.m.	36, 67 c	100
	Típica	1 994 m s.n.m.	43,28 c	100
	Caturra amarilla	1 994 m s.n.m.	39, 11 c	100
	Bourbon	1 994 m s.n.m.	57, 72 b	100
	Sarchimor	1 994 m s.n.m.	62, 28 b	100
Y del Guineo - Santa Rufina	Bourbon	579 m s.n.m	72 a	100
$\bar{E}\bar{X} \pm$			2,03	----

Medias con letras iguales, no difieren significativamente, según Tukey ($p \leq 0.05$). $\bar{E}\bar{X} \pm$ Error Estándar de la media

6.2. Identificación de las características morfo culturales de los aislados de *Mycena citricolor* recolectados en dos sectores de los cantones Chaguarpamba y Loja.

6.2.1. Características macroscópicas de *M. citricolor*

En la Tabla 8, se muestran las características macroscópicas de los 6 aislamientos de *Mycena citricolor* recolectados en los dos sectores de muestreo (Hacienda Cristal y Santa Rufina). Los aislados obtenidos fueron agrupados en tres morfotipos, de acuerdo con sus características morfológicas.

Tabla 8. Características macroscópicas de seis aislamientos de *M.citricolor*, obtenidos de las variedades de café en dos sectores de los cantones Chaguarpamba y Loja

Morfotipos	Aislado	Zona	Color del micelio	Pigmentación del medio de cultivo	Apariencia del micelio	Llenado de caja
1	A1	Malacatos	Blanco	No presente	Anillado y ramificado	10 días
1	A2	Malacatos	Blanco	No presente	Anillado y ramificado	13 días
1	A3	Malacatos	Blanco	No presente	Anillado y ramificado	12 días
2	A4	Malacatos	Blanco	No presente	Ramificado con formación de motas blancas en el centro de la colonia	10 días
2	A5	Malacatos	Blanco	No presente	Ramificado con formación de motas blancas en el centro de la colonia	10 días
3	A6	Santa Rufina	Blanco	No presente	Algodonoso y ramificado	10 días

A1 (Típica-Malacatos), **A2** (Sarchimor-Malacatos), **A3** (Caturra amarilla- Malacatos), **A4** (Colombia 6- Malacatos), **A5** (Bourbon-Malacatos) y **A6** (Bourbon-Santa Rufina).

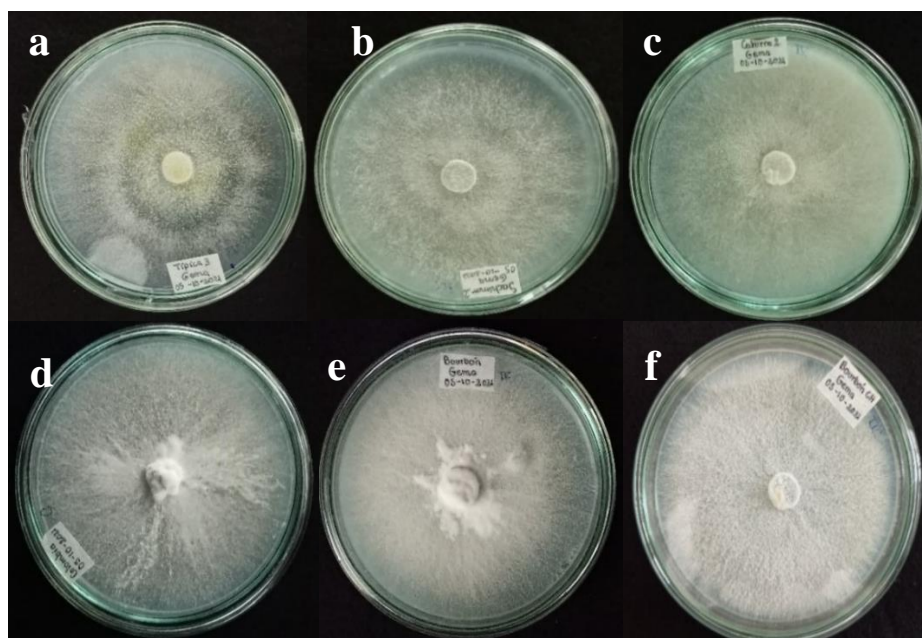


Figura 5. Morfotipo 1: (a) Típica-Malacatos, (b) Sarchimor-Malacatos, (c) Caturra amarilla-Malacatos; Morfotipo 2: (d) Colombia 6-Malacatos y (e) Bourbon-Malacatos y Morfotipo 3: (f) Bourbon-Santa Rufina

6.2.2. Características microscópicas de *M. citricolor*

Según las observaciones microscópicas realizadas en los seis aislamientos de *Mycena citricolor*, se pudo evidenciar que los aislamientos A1, A2, A3, A4, A5 y A6 presentaron hifas vegetativas, hialinas, septadas e irregulares de diferente grosor formando fíbulas. Asimismo, se observa que las hifas presentan una división paralela y en el medio una hifa perpendicular (Anexo 3).

6.2.3. Crecimiento micelial de aislamientos de *M. citricolor*

En la Tabla 9, se observa el crecimiento micelial de *Mycena citricolor* y los resultados del análisis estadístico, se identificó dos aislamientos con el máximo crecimiento micelial, durante el período de evaluación y al final de la evaluación, los cuales fueron A1 y A4 (90 mm), de igual forma, se evidenció el aislamiento A3 (72 mm) con el menor crecimiento micelial.

Tabla 9. Crecimiento micelial en seis aislamientos de *M. citricolor*, expresado en milímetros.

Aislamiento	Variedad y Sector	Crecimiento micelial de <i>M. citricolor</i> en días									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
A1	Típica Malacatos	10	17,50 a	29,75 a	42,38 a	54,00 a	67,00 a	78,50 a	81,50 a	87,25 a	90 a
A2	Sarchimor Malacatos	10	10,50 b	18,25 a	25,75 c	33,25 c	41,75 c	53,00 c	60,50 c	74,00 b	79,25 b
A3	Caturra amarilla Malacatos	10	10 b	17 a	24,25 c	32,75 c	39 c	45,25 d	52,75 d	65,50 c	72 c
A4	Colombia 6 Malacatos	10	10,50 b	21,75 b	32,25 b	43,75 b	55,75 b	63,75 b	76,50 b	85,00 a	90 a
A5	Bourbon Malacatos	10	11,50 b	21,75 b	32,00 b	42,00 b	53,00 b	64,25 b	73,00 b	83,25 a	89,50 a
A6	Bourbon Santa Rufina	10	11,25 b	21,75 b	32,25 b	43,25 b	53,75 b	61,25 b	73,75 ab	82,75 a	89,25 a
	$\bar{E}\bar{X} \pm$		0,39	0,50	0,83	1,24	1,31	1,47	1,65	1,57	1,15

Medias con letras iguales, no difieren significativamente, según Tukey ($p \leq 0.05$). $\bar{E}\bar{X} \pm$ Error Estándar de la media

6.2.4. Medición de estructuras reproductivas de *M. citricolor*

En la Tabla 10, se presentan las medidas del diámetro de la cabeza de la estructura reproductiva, longitud del pedicelo y longitud total de la estructura reproductiva, crecidas en dos ambientes diferentes en condiciones naturales (planta) e *in vitro* de las cinco variedades de café del sector Malacatos y una variedad del sector Santa Rufina. Con respecto al análisis estadístico, el diámetro de la cabeza de la estructura reproductiva, se observó el mayor valor en la variedad Colombia 6 en condiciones *in vitro* con 0,39 mm y con menor valor el diámetro de la cabeza de las variedades Típica y Bourbon de la Hacienda Cristal en condiciones naturales con 0,27 mm. Asimismo, se muestra que la variable longitud del pedicelo, se encontró el valor máximo en Colombia 6 crecidas *in vitro* con 1,02 mm, mientras que el menor valor se encuentra Típica crecidas *in vitro* con 0,42 mm. Para la variable longitud total de la estructura reproductiva, se observó que el mayor valor presenta Colombia 6 en condiciones *in vitro* con 1,18 mm y con un valor mínimo Típica en condiciones *in vitro* con 0,65.

Tabla 10. Medidas del diámetro de la cabeza de la estructura reproductiva, longitud del pedicelo y longitud total de la estructura reproductiva crecidas en dos ambientes, expresados en milímetros.

Variedad	Zona	Ambiente	Diámetro de la cabeza de la estructura reproductiva	Longitud del pedicelo	Longitud total de la estructura reproductiva
Típica	Malacatos	Natural	0,27 f	0,87 abcd	1,04 abc
Sachimor	Malacatos	Natural	0,28 ef	0,72 d	0,90 c
Caturra amarilla	Malacatos	Natural	0,31 bcd	0,84 abcd	1,03 abc
Colombia 6	Malacatos	Natural	0,35 ab	0,89 abcd	1,05 abc
Bourbon	Malacatos	Natural	0,27 f	0,73 cd	0,93 bc
Bourbon	Santa Rufina	Natural	0,28 ef	0,90 abc	1,08 abc
Típica	Malacatos	<i>In vitro</i>	0,29 def	0,49 e	0,65 d
Sachimor	Malacatos	<i>In vitro</i>	0,32 bcd	0,85 abcd	0,99 abc
Caturra amarilla	Malacatos	<i>In vitro</i>	0,35 ab	0,80 bcd	1,07 abc
Colombia 6	Malacatos	<i>In vitro</i>	0,39 a	1,02 a	1,18 a
Bourbon	Malacatos	<i>In vitro</i>	0,33 bc	0,85 abcd	1,03 abc
Bourbon	Santa Rufina	<i>In vitro</i>	0,33 bc	0,92 ab	1,11 ab
		$\bar{E}X \pm$	0,01	0,04	0,05

Medias con letras iguales, no difieren significativamente, según Tukey ($p \leq 0.05$). $\bar{E}X \pm$ Error Estándar de la media

6.2.5. Área y número de estructuras reproductivas sobre el medio de cultivo

En la Tabla 11, se presentan los resultados obtenidos del análisis estadístico del número de estructuras reproductivas en 1 cm² y el área ocupada por las estructuras reproductivas en cm² sobre el medio de cultivo, se logró identificar el valor más alto en el aislamiento A1 con 225,30 estructuras reproductivas en 1 cm², de igual forma, se observó el valor más bajo para el aislamiento A6 con 16 estructuras reproductivas en 1 cm². Asimismo, se evidenció la mayor área de estructuras reproductivas sobre el medio de cultivo en el aislamiento A4 con un 41,79 cm² y la menor área de estructuras reproductivas en el aislamiento A6 con un 0,44 cm².

Tabla 11. Número de estructuras reproductivas en 1 cm² y área ocupada por las estructuras reproductivas en cm² en seis aislamientos de *M. citricolor*

Aislamiento	Zona	Variedad	Número de estructuras reproductivas en 1 cm ²	Área ocupada por estructuras reproductivas (cm ²) sobre medio de cultivo
A1	Malacatos	Típica	225,30 a	2,90 bc
A2	Malacatos	Sachimor	153,67 bc	3,54 bc
A3	Malacatos	Caturra amarilla	147,31 c	9,17 b
A4	Malacatos	Colombia 6	163,78 bc	41,79 a
A5	Malacatos	Bourbon	171,77 b	6,27 bc
A6	Santa Rufina	Bourbon CH	16 d	0,44 c
		E \bar{X} ±	4,03	1,69

Medias con letras iguales, no difieren significativamente, según Tukey ($p \leq 0.05$). E \bar{X} ± Error Estándar de la media.

6.2.6. Formación de la fase asexual de *M. citricolor*

Los discos del micelio del hongo patógeno sembrados en medio de cultivo PDA, presentaron desde los 4 días la aparición de estructuras reproductivas al ser expuesto a 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad, pasado 7 días con las mismas condiciones se evidenció la formación de más estructuras reproductivas. Asimismo, al llegar al último día de evaluación (20 días) se observó una mayor esporulación de estructuras reproductivas sobre el medio de cultivo.



Figura 6. Formación de la fase asexual de *M. citricolor* en medio de cultivo PDA a $25^{\circ}\text{C} \pm 1$.

6.3. Evaluación del efecto de cinco aislados de *Trichoderma* spp. mediante diferentes concentraciones en el control de ojo de gallo (*Mycena citricolor* Berk. & Curt.) en café bajo condiciones de laboratorio.

6.3.1. Efectividad de aislados de *Trichoderma* frente a *M. citricolor* en cultivos duales

6.3.1.1. Porcentaje de Inhibición del Crecimiento Radial (PICR)

En la Tabla 12, se observa la evaluación del PICR en cultivos duales de *Mycena citricolor* con aislados de *Trichoderma*. En la evaluación del PICR en las horas de evaluación, se observaron valores entre 18,94 a 100 %, se evidenció que el valor mayor de PICR se obtuvo al quinto día de evaluación en los tratamientos T9 (100 %), y T15 (100 %), seguido el T13 (99,96 %). Asimismo, se observó que los tratamientos con el producto químico (T1, T2, y T3) inhibieron el menor crecimiento del patógeno al quinto día, con valores entre 42,56 % a 50,93 %. Es necesario destacar que el fungicida químico logro detener el crecimiento del hongo patógeno, sin embargo, al no estar en contacto directo con el fungicida, se observó crecimiento de estructuras asexuales sobre el micelio del hongo.

Tabla 12. Porcentaje de inhibición del crecimiento radial (PICR) de tres morfotipos de *Mycena citricolor* con 5 aislados de *Trichoderma* spp. y un fungicida químico (Evito T).

Tratamiento	PICR (%)				
	24 h	48 h	72 h	96 h	120 h
T1 M1-Funguicida	32,29 cdefg	36,10 fg	39,06 h	40,73 i	42,56 h
T2 M2-Funguicida	28,98 efg	32,64 g	37,25 h	40,45 i	42,64 h
T3 M3-Funguicida	41,93 b	43,73 cdef	47,23 fgh	48,80 i	50,93 g
T4 M1- <i>T. harzianum</i>	36,23 bcde	46,55 bcde	56,49 def	68,19 efgh	83,09 de
T5 M2- <i>T. harzianum</i>	36,72 bcd	48,72 bcd	59,45 cde	67,39 fgh	73,89 f
T6 M3- <i>T. harzianum</i>	30,63 defg	46,23 bcde	62,20 cd	69,55 efgh	84,83 cd
T7 M1-C3-OPL-Tvir	35,96 bcdef	42,18 cdef	58,65 cde	73,45 def	87,68 cd
T8 M2-C3-OPL-Tvir	36,85 bcd	42,64 cdef	57,28 de	72,60 def	87,68 cd
T9 M3-C3-OPL-Tvir	54,35 a	67,49 a	79,37 a	91,93 ab	100 a
T10 M1-T3TKT19	36,78 bcd	50,41 bcd	65,80 cd	72,33 defg	86,17 cd
T11 M2-T3TKT19	28,47 fg	38,52 efg	52,16 efg	71,36 defg	83,93 de
T12 M3-T3TKT19	28,34 fg	45,42 bcde	62,40 cd	76,55 cde	90,59 bc
T13 M1-G8CTM4	39,87 bc	50,76 bc	67,65 bc	84,42 bc	96,96 ab
T14 M2-G8CTM4	35,49 bcdef	49,82 bcd	67,32 c	78,85 cd	96,35 ab
T15 M3-G8CTM4	36,39 bcde	53,01 b	77,33 ab	98,26 a	100 a
T17 M1-SF2b	29,78 defg	35,63 fg	44,87 gh	61,83 h	84,32 cde
T18 M2-SF2b	25,97 gh	34,80 fg	51,21 efg	63,77 gh	77,96 ef
T19 M3-SF2b	18,94 h	41,62 defg	58,30 cde	68,97 efgh	86,36 cd
E \bar{X} \pm	1,55	1,83	2,02	1,75	1,34

Medias con letras iguales entre columnas del mismo día, no difieren significativamente, según Tukey ($p \leq 0.05$). E \bar{X} \pm Error Estándar de la media.

De acuerdo a los resultados obtenidos en la Tabla 13, se pudo determinar la clase de capacidad antagónica de los aislados de *Trichoderma* frente al hongo patógeno. En la Tabla 13 se observa que los aislados de *Trichoderma* se encuentra dentro de la clase 1 y la clase 2 de acuerdo a escala

de Bell, destacándose que el aislado G8CTM4 frente a los tres morfotipos y los aislados C3-OPL-Tvir y T3TKT19 frente al morfotipo 3, pertenecen a la clase 1 donde indica que el antagonista creció completamente sobre el hongo patógeno y cubrió toda la caja, mientras que el resto de los aislados de *Trichoderma* frente al resto de los morfotipos se encontraron en la clase 2 donde *Trichoderma* cubre al menos 2/3 partes de la superficie del medio respecto al fitopatógeno.

Tabla 13. Capacidad antagonista planteada a la escala de Bell *et al.* (1982).

Control	<i>M. citricolor</i>	Clase
<i>T. harzianum</i>	M1	2
<i>T. harzianum</i>	M2	2
<i>T. harzianum</i>	M3	2
C3-OPL-Tvir	M1	2
C3-OPL-Tvir	M2	2
C3-OPL-Tvir	M3	1
T3TKT19	M1	2
T3TKT19	M2	2
T3TKT19	M3	1
G8CTM4	M1	1
G8CTM4	M2	1
G8CTM4	M3	1
SF2b	M1	2
SF2b	M2	2
SF2b	M3	2

M1 (Morfotipo 1), M2 (Morfotipo 2) y M3 (Morfotipo 3)

6.3.2. Efectividad de aislados de *Trichoderma* spp. sobre el crecimiento de *Mycena citricolor*

En la Tabla 14, se observa el crecimiento del diámetro micelial de los aislados de *Trichoderma* en tres concentraciones sobre el disco del hongo patógeno y dos testigos el fungicida químico y *Mycena citricolor* (Morfotipo 1), durante el periodo de evaluación se evidenció que el hongo antagonista inhibió por completo el crecimiento del hongo patógeno al ser sumergido en las concentraciones de *Trichoderma*. Los valores del crecimiento micelial de *Trichoderma* en las distintas concentraciones se encontraron entre 10 a 90 mm, mostrándose los tratamientos que llenaron caja a las 96 h fueron T4 (C3-OPL-Tvir -C1), T5 (C3-OPL-Tvir -C2), T6 (C3-OPL-Tvir -C3), T7 (T3TKT19-C1), T9 (T3TKT19-C3), T12 (G8CTM4-C3) y T15 (SF2b-C3); también se evidenció el tratamiento con valor más bajo el T14 (SF2b-C2) con 21,4 mm. De la misma forma, se menciona que el tratamiento con producto químico impidió el crecimiento hongo patógeno.

Tabla 14. Diámetro del crecimiento micelial de aislados de *Trichoderma* sobre *M. citricolor* (Morfotipo 1), expresado en milímetros.

Tratamiento	Horas			
	24	48	72	96
T1 (Bio-Trich-C1)	10,4 e	25,4 e	63,4 ef	85 ab
T2 (Bio-Trich-C2)	11,6 e	33 d	66,4 def	87 ab
T3 (Bio-Trich-C3)	13 e	28,2	68,2 cde	88,4 ab
T4 (C3-OPL-Tvir -C1)	21,2 abcd	43,2 bc	89,2 a	90 a
T5 (C3-OPL-Tvir -C2)	19,6 bcd	44 abc	87,4 a	90 a
T6 (C3-OPL-Tvir -C3)	21,6 abc	40 bc	85,4 a	90 a
T7 (T3TKT19-C1)	17,4 d	39,6 c	71,6 bcd	90 a
T8 (T3TKT19-C2)	18,4 cd	41,8 bc	73,8 bc	83,4 b
T9 (T3TKT19-C3)	20,2 abcd	41,2 bc	75,2 b	90 a
T10 (G8CTM4-C1)	19 bcd	27,8 de	52,6	69 d
T11 (G8CTM4-C2)	24 a	46,2 ab	61,2 f	76,8 c
T12 (G8CTM4-C3)	22 abc	50,2 a	71,8 bcd	90 a
T13 (SF2b-C1)	10 d	30 de	70,6 bcd	88 ab
T14 (SF2b-C2)	10,8 e	14,2 f	17,4 i	21,4 f
T15 (SF2b-C3)	22,6 ab	41,2 bc	85,2 a	90 a
T16 (Testigo Evito T)	0 f	0 g	0 j	0 g
T17 (Testigo M1)	10 e	15,8 f	31,6 g	40,2 e
E \bar{X} \pm	0,78	1,30	1,16	1,29

Medias con letras iguales, no difieren significativamente, según Tukey ($p \leq 0.05$). E \bar{X} \pm Error Estándar de la media.

En la Tabla 15, se observa el crecimiento del diámetro micelial de los aislados de *Trichoderma* en tres concentraciones sobre el disco del hongo patógeno y dos testigos, el fungicida químico y *M. citricolor* (Morfotipo2), durante el periodo de evaluación se observó que el hongo antagonista inhibió por completo el crecimiento del hongo patógeno al ser sumergido en las concentraciones de *Trichoderma*. Los valores del crecimiento micelial de *Trichoderma* en las distintas concentraciones se encontraron entre 10 a 90 mm, mostrándose los tratamientos que llenaron caja a las 96 h fueron T3 (Bio-Trich-C3), T5 (C3-OPL-Tvir -C2), T7 (T3TKT19-C1), T9 (T3TKT19-C3), T10 (G8CTM4-C1), T11 (G8CTM4-C2), T12 (G8CTM4-C3) y T15 (SF2b-C3); también se observó el tratamiento con menor valor el T4 (C3-OPL-Tvir -C1) con 77,6 mm. De la misma

forma, se menciona que el tratamiento con producto químico inhibió por completo el crecimiento patógeno.

Tabla 15. Diámetro del crecimiento micelial de aislados de *Trichoderma* sobre *M. citricolor* (morfortipo 2), expresado en milímetros.

Tratamiento	Horas			
	24	48	72	96
T1 (Bio-Trich-C1)	10,4 gh	33 bcde	65,8 f	78,2 c
T2 (Bio-Trich-C2)	11,4 gh	29 e	69,8 def	89 a
T3 (Bio-Trich-C3)	13,2 efgh	28,6 e	69 ef	90 a
T4 (C3-OPL-Tvir -C1)	10 h	39,2 b	64,2 f	77,6 c
T5 (C3-OPL-Tvir -C2)	14,6 bcd	36,4 bcd	65,8 f	90 a
T6 (C3-OPL-Tvir -C3)	13,6 efgh	38 bc	77,8 bcd	89 a
T7 (T3TKT19-C1)	17 cde	33,6 bcde	80,8 abc	83,2 b
T8 (T3TKT19-C2)	19,6 abc	38 bc	77,2 bcde	88,2 a
T9 (T3TKT19-C3)	19,8 abc	36,6 bcd	81,4 abc	90 a
T10 (G8CTM4-C1)	22 a	55,2 a	88 a	90 a
T11 (G8CTM4-C2)	21,4 ab	56 a	87,2 a	90 a
T12 (G8CTM4-C3)	22,6 a	52,8 a	87,6 a	90 a
T13 (SF2b-C1)	12 fgh	35,6 bcde	75 cde	89 a
T14 (SF2b-C2)	16,2 cdef	30 de	78,6 bc	88 a
T15 (SF2b-C3)	17,6 defg	31,6 cde	84,2 ab	90 a
T16 (Testigo Evito T)	0 i	0 g	0 h	0 e
T17 (Testigo M2)	10 h	12,6 f	24,2 g	33 d
$\bar{E}\bar{X} \pm$	0,83	1,39	1,67	0,90

Medias con letras iguales, no difieren significativamente, según Tukey ($p \leq 0.05$). $\bar{E}\bar{X} \pm$ Error Estándar de la media

En la Tabla 16, se muestra el crecimiento del diámetro micelial de los aislados de *Trichoderma* en tres concentraciones sobre el disco del hongo patógeno y dos testigos, el fungicida químico y *M. citricolor* (Morfortipo 3), durante el periodo de evaluación se observó que el hongo antagonista inhibió por completo el crecimiento del hongo patógeno al ser sumergido en las concentraciones de *Trichoderma*. Los valores del crecimiento micelial de *Trichoderma* en las distintas concentraciones se encontraron entre 10 a 90 mm, mostrándose los tratamientos que llenaron caja a las 96 h fueron T3 (Bio-Trich-C3), T5 (C3-OPL-Tvir -C2), T6 (C3-OPL-Tvir -C3) y T15 (SF2b-

C3); también se observó el tratamiento con menor valor el T1 (Bio-Trich-C1) con 67,4 mm. De la misma forma, se menciona que el tratamiento con producto químico impidió por completo el crecimiento patógeno.

Tabla 16. Diámetro del crecimiento micelial de aislados de *Trichoderma* sobre *M. citricolor* (morfofio 3), expresado en milímetros.

Tratamiento	Horas			
	24	48	72	96
T1 (Bio-Trich-C1)	10 c	14,8 hi	52,4 ef	67,4 e
T2 (Bio-Trich-C2)	12,2 bc	32,6 de	70 c	87,6 ab
T3 (Bio-Trich-C3)	14,4 b	30 de	70 c	90 a
T4 (C3-OPL-Tvir -C1)	12,2 bc	22,6 fg	56,2 ef	81,2 abc
T5 (C3-OPL-Tvir -C2)	12,8 bc	36,2 bcd	81,6 ab	90 a
T6 (C3-OPL-Tvir -C3)	18,6 a	40,4 ab	85,8 a	90 a
T7 (T3TKT19-C1)	10,8 c	21,2 gh	57 ef	70,4 de
T8 (T3TKT19-C2)	10,6 c	28,6 ef	57,6 ef	75,6 cde
T9 (T3TKT19-C3)	18,4 a	36,2 bcd	73 bc	88 ab
T10 (G8CTM4-C1)	10 c	44,2 a	68,8 cd	79,2 bcd
T11 (G8CTM4-C2)	12,6 bc	30,6 de	70,4 c	87,6 ab
T12 (G8CTM4-C3)	11,6 bc	30,8 de	54,8 ef	72,2 cde
T13 (SF2b-C1)	10,4 c	35 bcde	49,4 f	74,2 cde
T14 (SF2b-C2)	11 c	33 cde	59,6 de	79 bcd
T15 (SF2b-C3)	19 a	39,4 abc	87,8 a	90 a
T16 (Testigo Evito T)	0 d	0 j	0 h	0 g
T17 (Testigo M3)	10 c	10 i	11,6 g	17,8 f
$E\bar{X} \pm$	0,67	1,29	1,77	1,77

Medias con letras iguales, no difieren significativamente, según Tukey ($p \leq 0.05$). $E\bar{X} \pm$ Error Estándar de la media.

7. DISCUSIÓN

7.1. Identificación de la incidencia y severidad del hongo *Mycena citricolor* en dos sectores de los cantones Chaguarpamba y Loja.

En el presente estudio, se determinó un 100 % de incidencia de la enfermedad ojo de gallo en todas las variedades muestreadas de los dos sectores (Malacatos y Santa Rufina), mientras que, para la severidad se observó que las variedades más afectadas por el ojo de gallo fueron Bourbon en Santa Rufina con 72 % y Sarchimor de la Hacienda Cristal con 62,28 %. Resultados similares a Pacheco (2012), el cual menciona que, cafetales ubicados a más de 1 000 m de altitud, son los más afectados por la enfermedad ojo de gallo, el cual obtuvo el 100 % de incidencia en plantas de café y de severidad entre el 12,08 % a 76,56 %, mientras que en cafetales situados en altitud inferior a 700 m obtuvo 52 % de incidencia y 10,20 % de severidad en plantas. Hoppe (2021), encontró que la enfermedad ojo de gallo se presenta con mayor intensidad en hojas entre 10,31 % y 21,30 % de daño y en plantas entre 21 y 40 % de daño en variedades de café Bourbon amarillo, Catuai, Caturra amarillo y Caturra rojo. Santacreo (2001), señala que en plantaciones localizadas entre los 800 - 1 400 m s.n.m., donde la roya no sea problema y el ojo de gallo cause daños económicos, la siembra de las variedades Catuaí, Caturra y Villa Sarchí es una buena alternativa. Asimismo, Lizardo y Trejo (2020), mencionan que todas las variedades de café son susceptibles al ojo de gallo, sin embargo, variedades creadas para la resistencia genética de roya de café de origen Catimor y Sarchimor son más susceptibles a ojo de gallo.

7.2. Caracterización morfocultural en los aislados de *Mycena citricolor* recolectados en dos sectores de los cantones Chaguarpamba y Loja.

Con respecto, a los seis aislamientos de *Mycena citricolor* obtenidos de las variedades de café de los dos sectores muestreados, se logró obtener tres morfotipos del hongo patógeno, los cuales se los agrupo de acuerdo con las características morfológicas. Se encontraron características iguales en todos los morfotipos como fue el color blanco del micelio y la ausencia de pigmentación del medio de cultivo. Resultados similares por López (2001) y Arciniegas (2021), quienes observaron la misma coloración del micelio y sin coloración del sustrato. Asimismo, autores mencionan que la coloración y la forma de crecimiento circular, no varía a través del tiempo ni a través de su manipulación en laboratorio (García, 2012; Arciniegas, 2021). Por otra parte, la textura del micelio que presentaron los aislamientos fueron micelio anillado, ramificado con presencia de motas en el

centro de la colonia y micelio algodonoso, además presentó micelio liso, resultados similares a López (2001), García (2012) y Granados (2015), quienes observaron texturas anilladas, ramificadas, algodonosas y presencias de motas en el centro de la colonia, además mencionan que ciertos aislamientos muestran colonias lisas de desarrollo lento y casi traslúcidas.

Según los resultados obtenidos se encontró que los aislados de *M. citricolor* tardaron en llenar caja entre 10 y 13 días, resultados parecidos a Arciniegas (2021), quien menciona que sus aislamientos de *M. citricolor* cubrieron el 90 % de las cajas de Petri a los 12, 15 y 18 días y resultados diferentes a los de Granados (2015), en donde sus aislamientos cubrieron totalmente el medio de cultivo a los 8 días. La temperatura óptima de crecimiento del micelio de *M. citricolor* es 21 °C, aunque crece bien a 25 °C (Wang, 1988; López, 2001; García, 2012). Romero (1988), señala que las condiciones de incubación tales como temperatura, humedad, pH del medio, contribuyen en el desarrollo de un hongo en condiciones *in vitro*.

De manera general, se observó que las estructuras reproductivas crecidas en condiciones *in vitro* presentaron un mayor diámetro de la cabeza, longitud del pedicelo y longitud total de la estructura reproductiva que las crecidas en condiciones naturales; esto se debe a que el medio de cultivo cuenta con el requerimiento nutricional necesario para el desarrollo de las estructuras reproductivas del hongo. González (2003), menciona que el medio de cultivo PDA es bastante nutritivo y estimula la germinación de *M. citricolor*, además refiere que este es el medio más usado para obtener una buena producción de estructuras reproductivas.

De los aislamientos evaluados para la germinación *in vitro*, se observó que el valor más alto de N° estructuras reproductivas en 1 cm² fue el aislamiento A1 (225,30 estructuras reproductivas en 1 cm²), mientras que la menor producción de estructuras reproductivas *in vitro* fue el aislamiento A6 (16 estructuras reproductivas en 1 cm²), lo que se contrasta con García (2012), quien obtuvo aislamientos que produjeron media de estructuras reproductivas en 1 cm² de 166,83 y 158,78 y el aislamiento más bajo fue de 74 estructuras reproductivas en 1 cm² e indica que algunos aislamientos emiten mayor número de estructuras reproductivas *in vitro*.

La producción de estructuras reproductivas sobre medio de cultivo de los aislamientos de *M. citricolor* fue de 4 a 12 días después de ser sometidos a 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad. Resultados similares a García (2012), quien observó la aparición de estructuras reproductivas a los

3 y 4 días de ser expuestos a luz natural. Por ello, considera que luz y humedad son necesarias en el ciclo de vida del hongo. De igual manera, Arciniegas (2021), menciona que los aislamientos de *M. citricolor* producen estructuras reproductivas a los 6 días de crecimiento después de ser expuestos a la luz. Rodríguez (1965), encontró que la mayor producción de estructuras reproductivas y su coloración amarilla, se da cuando el micelio del hongo es expuesto a longitudes de onda de 310-400 nm.

7.2. Evaluación del efecto de cinco aislados de *Trichoderma* spp. mediante diferentes concentraciones en el control de ojo de gallo (*Mycena citricolor* Berk. & Curt.) en café bajo condiciones de laboratorio.

Según los resultados de efectividad, los aislamientos de *Trichoderma* frente a *Mycena citricolor* en cultivos duales se evidenció que al quinto día de evaluación los aislados C3 y G8CTM4 inhibieron totalmente el crecimiento del morfotipo 3 en un 100 %. Resultados análogos a Ojeda y Suès cum (2012), quienes mencionan que, al doceavo día de evaluación, *T. harzianum* mostró el mayor porcentaje de inhibición de crecimiento radial con un 78,3 %, mientras Porras (2000), estableció una actividad antagónica del 70 % del hongo *Hypocrea* (teleomorfo de *Trichoderma* spp.) sobre el hongo *M. citricolor*. Se ha encontrado que *Trichoderma* spp., inhibe la formación de las estructuras reproductivas y utiliza las estructuras reproductivas ya formadas como sustrato de crecimiento, logrando disminuir la diseminación del patógeno (Paez, 1976; Vargas, 1994). Castro y Rivillas (2006) observaron que en condiciones de laboratorio *Trichoderma harzianum*, presentó un alto efecto antagónico, inhibiendo el crecimiento y esporulado sobre el hongo *M. citricolor*.

El tratamiento dual, el fungicida químico inhibió el crecimiento del patógeno entre un 42,56 - 50,93 % en los morfotipos de *M. citricolor*, sin embargo, el fungicida químico solo detuvo el crecimiento del patógeno, debido a que no estuvo en contacto directo con el fungicida, lo que permitió el crecimiento de estructuras reproductivas de *M. citricolor*, lo que corrobora lo mencionado por McGrath (2004), que es difícil eliminar a todos los hongos dentro de una planta debido a que menudo algunos patógenos escapan a la acción del fungicida.

Las evaluaciones del ensayo con los 5 aislados de *Trichoderma* (*T. harzianum*, C3, T3Tkt19, G8CTM4 y SF2b) en tres concentraciones (1×10^6 , 1×10^7 y 1×10^8), permitieron evidenciar

que la mayoría de los aislados de *Trichoderma* llenaron la caja de Petri a las 96 h después de la inoculación, es decir no permitieron el crecimiento de los morfotipos de *M. citricolor*. Arroyo (1975), menciona que, en condiciones controladas, el uso del biocontrolador *Trichoderma* spp alcanza a inhibir la germinación del hongo *M. citricolor*; por otra parte, Andrade *et al.*, (2019), determinaron un crecimiento micelial de 90 mm en tres especies de *Trichoderma* (*T. harzianum*, *T. viride* y *T. asperellum*.) a las 80 horas. Además, se evidencio que el fungicida (Evito T) inhibió por completo el crecimiento de *M. citricolor* tras sumergir el micelio del hongo en el fungicida, lo que tiene relación a lo que recomienda Lizardo y Trejo (2020), que el uso de fungicidas de los grupos triazoles, estrobilurinas y carboxaminas controlan el ojo de gallo.

8. CONCLUSIONES

- Las evaluaciones realizadas para incidencia y severidad en condiciones de campo determinaron 100 % de incidencia en las variedades Colombia 6, Típica, Caturra amarilla, Bourbon y Sarchimor de la Hacienda Cristal y Bourbon de Santa Rufina; mientras que el mayor porcentaje de severidad presentaron las variedades Bourbon en Santa Rufina con 72 % y Sarchimor de la Hacienda Cristal con 62,28 %.
- La caracterización morfo-cultural macroscópica y microscópica de los seis aislados de *Mycena citricolor*; permitió establecer tres morfotipos diferenciados por sus estructuras vegetativas (micelio).
- Los 5 aislados de *Trichoderma* evaluados en cultivos duales, inhibieron el crecimiento del hongo patógeno, destacando el aislado G8CTM4 con un mayor PICR sobre los tres morfotipos de *M. citricolor*. Asimismo, los 5 aislados de *Trichoderma* en las tres concentraciones diferentes crecieron sobre el disco de *M. citricolor*, por lo tanto, lograron inhibir totalmente el crecimiento del hongo patógeno.

9. RECOMENDACIONES

- Identificar molecularmente los cuatro aislamientos de *Trichoderma* proporcionadas por el laboratorio de Sanidad Vegetal, para determinar a qué especie corresponden.
- Realizar pruebas de antagonismo con los 5 aislados de *Trichoderma* (*T. harzianum*, C3, T3Tkt19, G8CTM4 y SF2b) bajo condiciones controladas utilizando plántulas de las variedades de café.

10. BIBLIOGRAFÍA

Alvarado, M. y Rojas, G. (1994). Cultivo y beneficiado del café. Editorial EUNED. Costa Rica. 3 p.

Andrade, P., Luna, A., Osorio, E., Molina, E., Landero, N y Barrales, H. (2019). Antagonismo de *Trichoderma* spp. vs hongos asociados a la marchitez de chile. Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas. Vol 10. N° 6. 1265 p.

Amores, F., Dulcela, L., Corral, R., Guerrero, H., Vasco, A., Motato N., Zambrano L., Avelga, T. y Guedes, R. (2004). Variedades mejoradas de café arábigo. Consejo Cafetalero Nacional. Boletín N° 113. 2 p.

Ángel, C., Rivillas C., Arciniegas, N. y López, J. (2018). Bases para el Manejo de la Gotera u Ojo de Gallo del Cafeto en Colombia. Cenicafé. Colombia. 1-2 p.

Anoop K. y Bhai S. (2014). Evaluation of antagonistic potential of indigenous *Trichoderma* isolates against *Pythium aphanidermatum* (edson) fitz. causing rhizome rot in turmeric (*Curcuma longa* L.). Journal of Science. 4 (2): 99-105.

Arciniegas, P. (2021). Uso de nanopartículas de óxido de cinc como control de *Omphalia flavida*, agente causal de “la gotera”; enfermedad del cafeto (*Coffea arabica* L). Tesis para optar por el título Magister en Ciencias Biológicas. Palmira, Colombia. 31p.

Arroyo, T. (1975). Control biológico del ojo de gallo en el café causado por *Mycena citricolor* (Ber. y Curt), en época seca. Tesis para optar por el título de Ingeniería Agronomica. Costa Rica. 77 p.

Asencio, J. (2019). Análisis del sector cafetalero y su aporte a la economía ecuatoriana. Tesis para optar por el título de Economista. Guayaquil, Ecuador. 23 p.

Asociación Nacional del café (Anacafé). 2019. Guía de variedades de café. Guatemala, Segunda edición.

Barquero, M. (2011). Consideraciones sobre la relación beneficio / costo del control químico del ojo de gallo (en línea). Revista Informativa ICAFE, Costa Rica. 1- 4 pp.

Bissett, J., Gams, W., Jaklits, W. y Samuels, G. J. (2015). Accepted *Trichoderma* names in the year 2015. IMA Fungus.

Borbón, O. (1999). Consideraciones sobre la problemática del ojo de gallo en Costa Rica. Congreso Nacional de Fitopatología 1999. San José, Costa Rica, CICAPE. 5 p.

Burneo, J. (2020). Diseño arquitectónico de bajo impacto ambiental de un Centro de Investigación Científica en la Reserva “El Cristal” del cantón y provincia Loja. Tesis para optar por el título Arquitecto. Loja, Ecuador. 39 p.

Bustamante, B. (2013). Análisis del posicionamiento del café lojano en el mercado externo, y las proyecciones hacia nuevos mercados, año 2013. Tesis para optar por el título de Ingeniería en administración de empresas. Universidad Técnica Particular de Loja. . Loja, Ecuador. 44 p.

Companioni, B.; Domínguez, G. y García, R. (2019). *Trichoderma*: su potencial en el desarrollo sostenible de la agricultura. Biotecnología Vegetal Vol. 19, No. 4: 237 – 248.

Cañedo, V. (2004). Manual de Laboratorio para el Manejo de Hongos Entomopatógenos. Centro Internacional de la Papa (CIP). Lima, Perú. 62 p.

Carhuavilca, N. (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 por el título de Ingeniero Agrónomo Tropical. Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco Perú. 130 p.

Carsolio, C., Benhamou, N., Harán, S., Cortés, C., Gutierrez. A., Chet, I. y Herrera, A. (1999). Role of the *Trichoderma harzianum* endochitinase gene, ech42, in mycoparasitism. Appl Environ Microbiol. 929–935 pp.

Castillo M. “Estudio técnico productivo del café ecológico en la asociación de artesanos el colmenar en la parroquia San Antonio de las Aradas del Cantón Quilanga, Provincia de Loja”. Loja, Ecuador. 2016. 45 p.

Castro, A. y Rivillas, C. (2006). Antagonismo “*in vitro*” de *Trichoderma Harzianum* sobre hongos patógenos de café. Cenicafé. Chinchiná, Caldas, Colombia.

Chaverri, P., Castlebury, L.A., Overton, B.E. y Samuels, G.J. (2003). *Hypocrea/Trichoderma*: species with conidiophore elongations and green conidia. *Mycologia* 95:1100-1140.

Cooke, B., Jones, D. y Kaye, B. (2006). *The epidemiology of plant diseases*. 2da. Edición. Editorial Springer. Amsterdam, Netherlands. 584 p.

Córdova, T. 2016. Valoración Económica de una Plantación de pino en la hacienda Cristal del cantón Loja y provincia de Loja. Tesis para obtener título de Economista. Universidad Técnica Particular de Loja. Loja, Ecuador. 21 p.

Duarte, M. (2015). Control biológico del nematodo agallador de las raíces de la naranjilla *Meloidogyne* spp mediante aislamientos nativos de hongos nematófagos. Tesis para obtener título de Ingeniero Agrónomo. Universidad Nacional de Loja. Loja, Ecuador. 31 p.

Espinoza, W. (2017). Análisis sectorial del café y elaborados y su importancia en las exportaciones ecuatorianas, periodo 2012-2016. Tesis para optar por el título de Economista. Guayaquil, Ecuador. 42 p.

Federación Nacional de Cafeteros de Colombia. (2004). Variedades de café sembradas en Colombia. p 12-14.

Fernández, R. y Suárez C. 2009. Antagonismo *in vitro* de *Trichoderma harzianum* rifai sobre *Fusarium oxysporum* Schlecht f. sp *passiflorae* en Maracuyá (*Passiflora edulis* sims var. *flavicarpa*) del Municipio SectorBananera Colombiana. *Rev Fac Nal Agr Medellín* 62(1): 4743-4748.

Gajera, H., Rinkal, D., Patel S., Kapopara, M. y Golakiya, B. (2013). Molecular mechanism of *Trichoderma* as bio-control agents against phytopathogen system—a review. *Current Research in Microbiology and Biotechnology* 1:133-142.

García, J. (2012). Caracterización biológica del hongo *Mycena citricolor* Berk y Curt, con aislamientos obtenidos de cultivares de café (*Coffea arabica* L.) proveniente de las diferentes

zonas cafetaleras de Guatemala, C.A. Tesis para obtener el título de Ingeniero Agrónomo en Sistemas de Producción Agropecuaria Agrícola. 45 p.

García-Espejo C.N., Mamani-Mamani M.M., Chávez-Lizárraga G.A. y Álvarez-Aliaga M.T. (2016). Evaluation of the enzymatic activity of *Trichoderma inhamatum* (BOL-12QD) as possible biocontroller. Journal of the Selva Andina Research Society 7(1):20-32.

Gil L., Castro B. y Gómez G. (2003). Enfermedades del cafeto en Colombia. Colombia. Cenicafé. 128 p.

Granados, M. (2015). Estudio de la epidemiología y alternativas de manejo agroecológico del ojo de gallo (*Mycena citricolor*) en cafeto bajo sistemas agroforestales en Costa Rica. Tesis para optar por el título de Doctorado Académico en Sistemas de Producción Agrícola Tropical Sostenible. Ciudad Universitaria Rodrigo Facio, Costa Rica. 65 p.

González, M.(2003). Cultivo *in vitro* de Ojo de gallo. Revista Manejo Integrado de Plagas y Agroecología. Costa Rica. No. 67. 91 - 93 pp

Guharay, F., Monterrey, J., Monterroso, D. y Staver, C. (2000). Manejo integrado de plagas en el cultivo de café. CATIE. (Manual Técnico no. 44). Managua, Nicaragua, 267 p.

Hajek y Eilenberg. Enemigos naturales: una introducción al control biológico. 2da Edición. Cambridge University Press, New York. 2018.

Hoppe, Cesar. (2021). Incidencia de tres enfermedades foliares en 20 cultivares de café arábigo. Tesis para optar por el título de Ingeniero Agropecuario. Universidad Estatal del Sur de Manabí. 70 p.

Howell, C. (2003). Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the biological control of plant diseases: The history and evolution of current concepts. Plant Disease 87(1): 4-10.

Howell, C. (2005). Understanding the mechanisms employed by *Trichoderma virens* to effect biological control of cotton diseases. Phytopathology 96:178–180.

Infante, D., Martínez, B., González, N. y Reyes, Y. (2009). Mecanismos de acción de *Tichoderma* frente a hongos fitopatógenos. Revista de Protección Vegetal.

Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA). (1983). Técnicas modernas para el cultivo de café. Instituto Salvadoreño de investigaciones del café. El Salvador. 5 p.

Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias de Ecuador (INIAP). (1993). Manual del cultivo de café. Quevedo, Ecuador.

Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias de Ecuador (INIAP). (2014). Café arábigo. Quito, Ecuador.

Julca, A., Bello, S., Cruz, R., Borjas, R. y Gamboa, R. (2015). Efecto de seis fungicidas sobre el crecimiento *in vitro* de *Mycena citricolor* (Berk y Curt). Saber y hacer Vol. 2, N°1. Peru. 16 p.

Leal, S. (2011). Evaluación de fungicidas químicos y biológicos para el manejo de ojo de gallo ocasionada por *Mycena citricolor* en café (*coffea arabica*) en finca la soledad acatenango, chimaltenango, guatemala, c.a. Tesis para optar a la Lic. en Ingeniería Agronómica. 69 p.

Leyva, M. (2018). Principales enfermedades del café (*Coffea arabica*). Agro Productividad. 3(2).

Lizardo, C. y Trejo, A. (2020). Ojo de gallo (*Mycena citricolor*) y su manejo integrado. https://issuu.com/satihcafe/docs/bolet_n_no._12_ojo_de_gallo_y_su_manejo_integrado_

López, A. (2001). Caracterización Molecular y Morfológica de aislamientos del hongo *Mycena citricolor* colectados en diferentes zonas cafetaleras de Costa Rica. Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE).

Marcello, C., Stendorff, S., Silva, R., Silva, L., Bataus, M. y Ulhoa, C. (2010). Expression analysis of the exo-p-1,3-glucanase from the mycoparasitic fungus *Trichoderma asperellum*. Microbiological Research 165:75-81.

Martínez, B., Infante, D. y Reyes, Y. (2013). *Trichoderma* spp. y su función en el control de plagas en los cultivos. *Revista Protección Vegetal* 28:1-11.

Martínez, H., Osori, E., Estrada, B., López, J., Velara, S. y Torres, J. (2017). Control biológico de fitopatógenos mediante aislados de *Trichoderma* spp. Vol. 10, Núm. 3. 9-14 p.

McGrath, M. T. (2004). Evaluation of fungicide programs for managing powdery mildew of pumpkin, 2003. *Fungicide and Nematicide Tests* 59:V056.

Ministerio de Agricultura, Ganadería, Acuacultura y Pesca (MAGAP). (2011). Pronostico provincial de Loja.

Mokhtar, H. y Dehimat, L. (2015). *In vitro* and *in vivo* Efficiency of *Trichoderma harzianum* against Phoma and Glocladium Soft Rot Occurred on Tomato Fruits (*Lycopersicon Referencias Bibliográficas esculentum*). *International Journal Current Microbiology Applied Science*. 4 (8): 141-147.

Mora, G. (2012). Potencialidades y usos de los productos forestales no maderables de origen vegetal de la parroquia Santa Rufina, cantón Chaguarpamba, provincia de Loja. Tesis para la obtención del título de Ingeniera Forestal. Universidad Nacional de Loja. Loja, Ecuador. 35 p.

Ojeda K. y Suèscum , J. (2012). Evaluación de cinco aislados de hongos nativos como controladores biológicos de la enfermedad “Ojo de Pollo” (*Mycena citricolor*) en café (*Coffea arabica*) en condiciones *in vitro*. Tesis para optar por el título de Biólogo.

Organización Internacional del Café (ICO). (2019). Informe sobre desarrollo cafetero de 2019. Crecer para prosperar: viabilidad económica como catalizador de un sector cafetero sostenible. Londres.

Orozco, E. y Caldero, G. (2009). Biología de *Mycena citrícola* y su asociación en café para Guatemala. ANACAFE. 14 p.

Ortiz, N., Ayvar, S., Mena, A. y Alcántara, J. (2014). Etiología, incidencia y severidad de enfermedades fungosas foliares del cultivo de cafeto. *Revista Alimentos*, 64.

Pacheco, A. (2016). Epidemiología de la enfermedad ojo de gallo del café (*Coffea arabica*) causada por el hongo *Mycena citricolor* Berk. & Curt. en el área occidental de Guatemala, C.A. Tesis para optar por el título de Ingeniero Agrónomo en Sistemas de Producción Agrícola. 70 p.

Paez, P. (1976.) Factores que afectan el hiperparasitismo de *Trichoderma* spp. en combate biológico de ojo de gallo causado por *Mycena citricolor* (Bert and Curt Sacc). Tesis para optar por el título de Ingeniero Agrónomo. San José, Costa Rica, Universidad de Costa Rica. 42 p.

Pal, K.K. y McSpadden, G.B. (2006). Biological Control of Plant Pathogens. The Plant Health Instructor 1117-02.

Pozo, M. (2014). Análisis de los factores que inciden en la producción de café en el Ecuador 2000 –2011. Quito, Ecuador.

Porras, A. (2000). Evaluación de la actividad “*in vitro*” del género *Hypocrea* contra 2 hongos fitopatógenos de importancia agrícola (*Fusarium* sp. y *Mycena citricolor*). Tesis para optar por el título de Ingeniería en Biotecnología. 58 p.

Puerto A., Suárez S y Palacio D. (2014). Efectos de los plaguicidas sobre el ambiente y la salud. Revista Cubana Higiene Epidemiología. Vol.52 no.3. Habana, Cuba. 383.

Rivillas C. y Castro A. (2011). Ojo de gallo o gotera del cafeto *Omphalia flavida*. Cenicafé. Chinchiná - Caldas – Colombia. Boletín Técnico No. 37. 4-11 pp.

Rodríguez, C.J. (1965). Physiological studies on the american leaf spot of coffee and on its causal agent *Mycena citricolor*. Thesis PhD. Madison, US, University of Wisconsin, 71 p.

Romero, C.S. (1988). Hongos fitopatógenos. Universidad Autónoma de Chapingo. Chapingo estado de México, México. 347 p.

Salas J.A, Hancock J.G. 1972. Production of the Perfect Stage of *Mycena citricolor* (Berk. and Curt.) Sacc. HILGARDIA 41(9): 213-234

Santacreo, R. (2001). Variedades y mejoramiento genético del café. Manual de caficultura. 3ed. IHCAFE. Tegucigalpa M.D.C., Honduras. p. 23-40.

Schimoll, M., Esquivel, U. y Herrera, A. (2010). *Trichoderma* in the light of day physiology and development. *Fungal genetics and biology* 47:909-16.

Sequeira, L. 1958. The host range of *Mycena citricolor* (Berk and Curt) Sacc. Turrialba Vol. 8(4): 136-147.

Sharma, Y., Sriram, K. y Ramanujam, B. (2014). Efficacy of indigenous *Trichoderma* isolates for the management of cumin wilt (*Fusarium oxysporum* f. sp. *cumini*) in Rajasthan. *Journal of Spices and Aromatic Crops*. 23 (2): 268-271.

Shiomi, D., Yoshimoto, M., Homma, M. y Kawagishi, I. (2006). Helical distribution of the bacterial chemoreceptor via colocalization with the Sec protein translocation machinery. 894–906 p.

Townsend, G. y Heuberger, J. (1943). Methods for estimating losses caused by diseases in fungicide experiments. *Plant Disease Rep.* 27 (17): 340-343.

Venegas, S., Orellana, D. y Pérez, P. (2018). La realidad Ecuatoriana en la producción de café. *Revista Científica Mundo de la Investigación y el Conocimiento*. Vol. 2 núm.2. 76 p.

Vargas E. (1984). Interacciones de tratamiento biológico y químico en el combate del ojo de gallo (*Mycena citricolor*) en el cafeto. *Agronomía Costarricense* 8 (2): 91-97.

Valdés, E. (2014). Caracteres principales, ventajas y beneficios agrícolas que aportan el uso de *Trichoderma* como control biológico. *Revista Agroecosistemas*. Vol.2 No.1. 259.

Villafuerte, A. (2015). Plan de Desarrollo y Ordenamiento Territorial de Santa Rufina. Quito – Ecuador. 20 p.

Villaseñor, A. (1987). Caficultura moderna en México. Agrocomunicación Sáenz Colín y Asociados, Estado de México, México. 469 p.

Waghunde, R., Shelake, R. y Sabalpara, A. (2016). *Trichoderma*: a significant fungus for agriculture and environment. *African journal of agricultural Research*, 1952.

Wang, A. (1994). Aplicación de principios epidemiológicos para el control de ojo de gallo en cafeto. Costa Rica. Universidad de Costa Rica. Centro de Investigaciones en Protección de Cultivos. 25 p.

Woo, S., Ruocco, M., Vinale, F., Nigro, M., Marra, R., Lombardi, N. y Lotito, M. (2014). Productos a base de *Trichoderma* y su uso generalizado en agricultura. 71- 126 p.

Yujra, M. (2016). Establecimiento de plantaciones de café (*Coffea arabica* L.) variedad catuai rojo, bajo sistema agroforestales en tres comunidades de la quinta sección del municipio La Asunta Sud Yungas de la Paz. Tesis para optar por el título de Ingeniero Agrónomo. La Paz, Bolivia. 39 p.

Zin, N, A. y Badaludinn, N,A. (2020). Biological functions of *Trichoderma* spp. for agriculture applications. *Annals of Agricultural Sciences*; 65(2): 168-178.

11. ANEXOS

Anexo 1. Mapa de las sectores de estudio de *M. citricolor* en la provincia de Loja

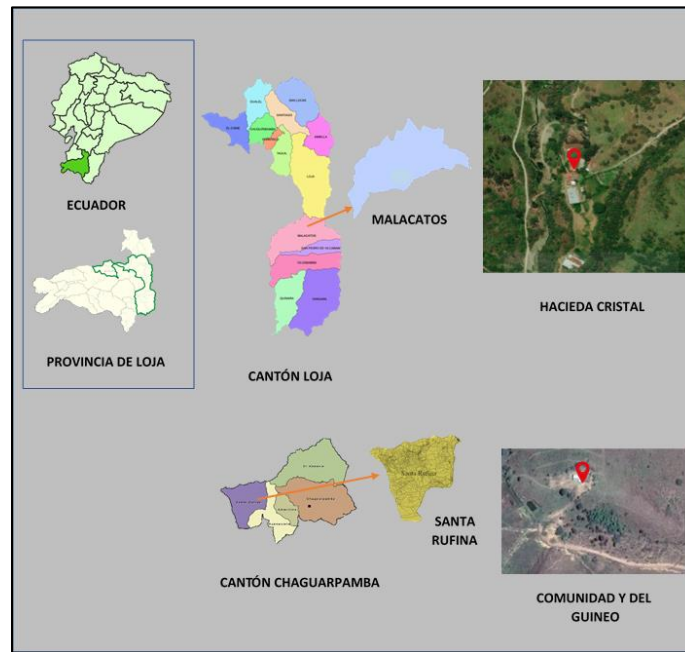


Figura 7. Mapa de los sectores de estudio de *M. citricolor* en los cantones Malacatos y Chaguarpamba

Anexo 2. Escala de severidad de *M. citriolor*








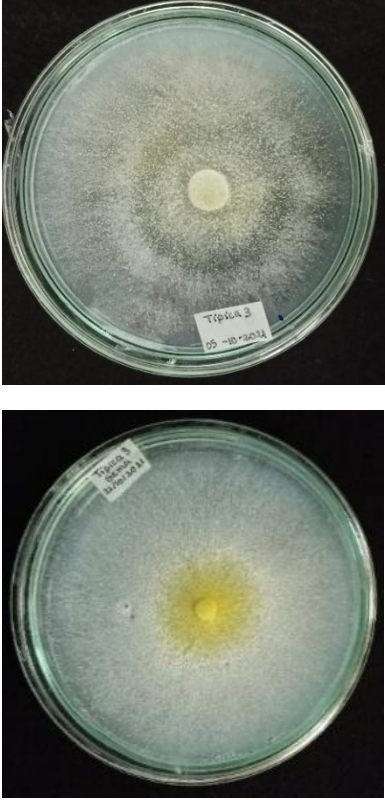

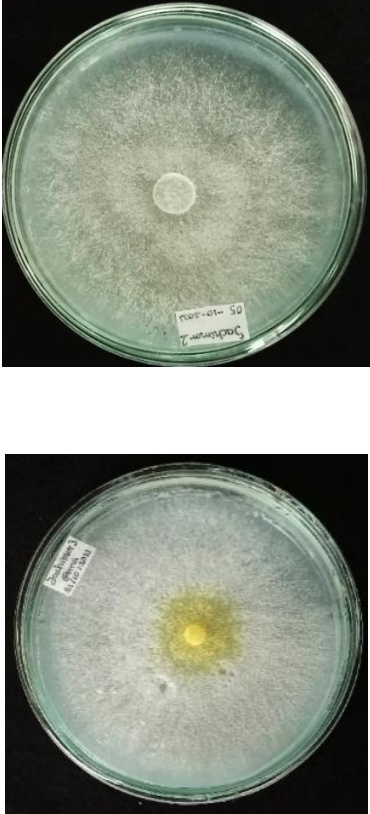

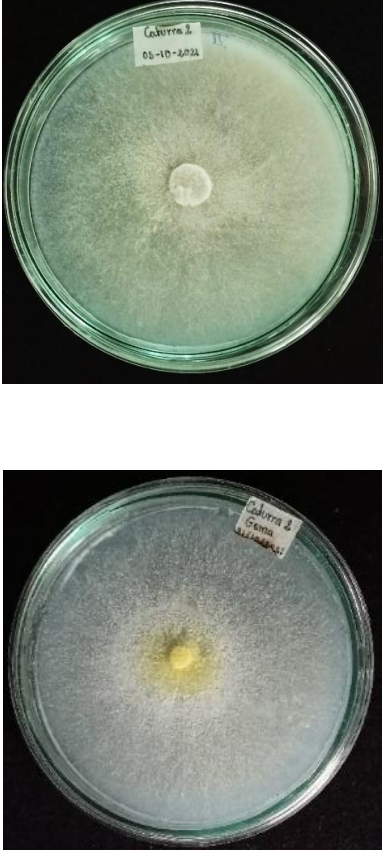

						
0 %	0.01- 10.30 %	10.31 – 21.30 %	22.31 – 32.33 %	32.24 – 43.30 %	43.31 – 55 %	> 56 %

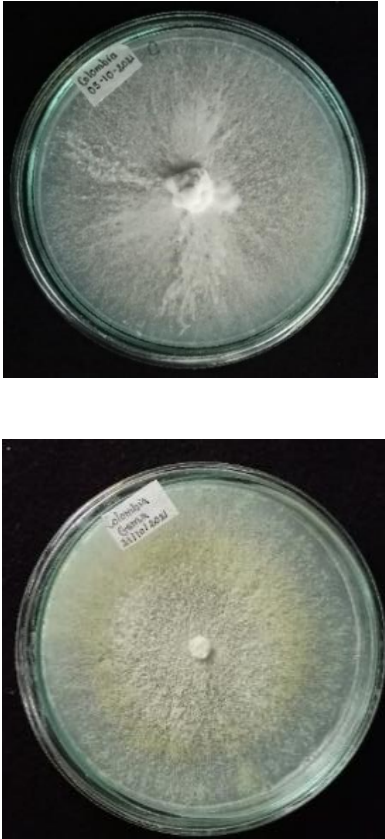

Figura 8. Escala de severidad de *M. citricolor* Leal (2011) y Pereira (2021).



Anexo 3 . Características macroscópicas y microscópicas en 6 aislamientos de *M.citricolor*, obtenidos de las variedades de café en dos sectores de la provincia de Loja


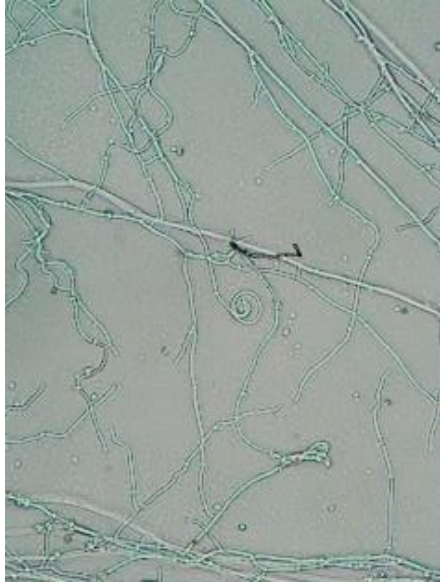
Morfotipo	Caracterización macroscópica	Colonia	Descripción microscópica	Imagen
<p>Morfotipo 1 (Malacatos-Típica)</p>	<p><i>Mycena citricolor</i> empezó a emitir hifas a los 2 días de inoculación, presentó micelio liso de color blanco, anillado y ramificado, sin pigmentación del medio de cultivo y lleno caja a los 10 días. Características similares a López (2001), García (2012) y Granados (2015).</p> <p>La aparición de estructuras reproductivas fue a los 4 días de inoculación, a los 20 días produjeron 225,39 estructuras reproductivas/cm² y presentó un área de crecimiento de estructuras reproductivas de 2,90 cm² sobre el medio de cultivo.</p>		<p>Presenta hifas vegetativas, hialinas, septadas e irregulares de diferente grosor formando fíbulas, asimismo se observa que las hifas presentan una división paralela y en el medio una hifa perpendicular. Características semejantes a las descritas por Arciniegas, (2021) y Wang y Avelino, (1999).</p>	

Morfotipo	Caracterización macroscópica	Colonia	Descripción microscópica	Imagen
<p data-bbox="121 813 264 841">Morfotipo 1</p> <p data-bbox="58 873 327 901">(Malacatos-Sarchimor)</p>	<p data-bbox="386 272 863 505"><i>Mycena citricolor</i> empezó a emitir hifas a los 2 días de inoculación, presentó micelio liso de color blanco, anillado y ramificado, sin pigmentación del medio de cultivo y lleno caja a los 13 días. Características similares a López (2001), García (2012) y Granados (2015)</p> <p data-bbox="386 594 863 857">La aparición de estructuras reproductivas fue a los 8 días de inoculación, a los 20 días produjeron media de 153,67 estructuras reproductivas/cm² y presentó un área promedio de crecimiento de estructuras reproductivas de 3,54 cm² sobre el medio de cultivo.</p>		<p data-bbox="1285 272 1606 703">Presenta hifas vegetativas, hialinas, septadas e irregulares de diferente grosor formando fíbulas, asimismo se observa que las hifas presentan una división paralela y en el medio una hifa perpendicular. Características semejantes a las descritas por Arciniegas, (2021) y Wang y Avelino, (1999).</p>	

Morfotipo	Caracterización macroscópica	Colonia	Descripción microscópica	Imagen
<p data-bbox="65 591 302 678">Morfotipo 1 (Malacatos-Caturra)</p>	<p data-bbox="386 293 863 521"><i>Mycena citricolor</i> empezó a emitir hifas a los 3 días de inoculación, presentó micelio liso de color blanco, anillado y ramificado, sin pigmentación del medio de cultivo y lleno caja a los 12 días. Características similares a López (2001), García (2012) y Granados (2015)</p> <p data-bbox="386 553 863 813">La aparición de estructuras reproductivas fue a los 4 días de la siembra en medio de cultivo, a los 20 días produjeron media de 147,31 estructuras reproductivas/cm² y presentó un área promedio de crecimiento de estructuras reproductivas de 9,17 cm² sobre el medio de cultivo.</p>		<p data-bbox="1283 293 1606 716">Presenta hifas vegetativas, hialinas, septadas e irregulares de diferente grosor formando fíbulas, asimismo se observa que las hifas presentan una división paralela y en el medio una hifa perpendicular. Características semejantes a las descritas por Arciniegas, (2021) y Wang y Avelino, (1999).</p>	

Morfotipo	Caracterización macroscópica	Colonia	Descripción microscópica	Imagen
<p>Morfotipo 2 (Malacatos-Colombia 6)</p>	<p><i>Mycena citricolor</i> empezó a emitir hifas a los 3 días de inoculación, presentó micelio liso de color blanco, ramificado con formación de motas blancas en la parte central de la colonia, sin pigmentación del medio de cultivo y lleno caja a los 10 días. Características similares a López (2001), García (2012) y Granados (2015)</p> <p>La aparición de estructuras reproductivas fue a los 6 días de inoculación, a los 20 días produjeron media de 163,78 estructuras reproductivas/cm² y presentó un área promedio de crecimiento de estructuras reproductivas de 41,79 cm² sobre el medio de cultivo.</p>		<p>Presenta hifas vegetativas, hialinas, septadas e irregulares de diferente grosor formando fíbulas, asimismo se observa que las hifas presentan una división paralela y en el medio una hifa perpendicular. Características semejantes a las descritas por Arciniegas, (2021) y Wang y Avelino, (1999).</p>	

Morfotipo	Caracterización macroscópica	Colonia	Descripción microscópica	Imagen
<p data-bbox="121 808 268 841">Morfotipo 2</p> <p data-bbox="67 873 321 906">(Malacatos-Bourbon)</p>	<p data-bbox="386 272 867 571"><i>Mycena citricolor</i> empezó a emitir hifas a los 2 días de inoculación, presentó micelio liso de color blanco, ramificado con formación de motas blancas en la parte central de la colonia, sin pigmentación del medio de cultivo y lleno caja a los 10 días. Características similares a López (2001), García (2012) y Granados (2015)</p> <p data-bbox="386 604 867 863">La aparición de estructuras reproductivas fue a los 10 días de inoculación, a los 20 días produjeron media de 171,77 estructuras reproductivas/cm² y presentó un área promedio de crecimiento de estructuras reproductivas de 6,27 cm² sobre el medio de cultivo.</p>		<p data-bbox="1285 305 1606 604">Presenta hifas vegetativas, hialinas, septadas e irregulares de diferente grosor formando fíbulas, asimismo se observa que las hifas presentan una división paralela y en el medio una hifa perpendicular.</p> <p data-bbox="1285 604 1606 734">Características semejantes a las descritas por Arciniegas, (2021) y Wang y Avelino, (1999).</p>	

Sector, variedad y morfotipo	Caracterización macroscópica	Colonia	Descripción microscópica	Imagen
<p>Morfotipo 3 (Santa Rufina-Bourbon)</p>	<p><i>Mycena citricolor</i> empezó a emitir hifas a los 2 días de inoculación, presentó micelio liso de color blanco, algodonoso y ramificado, sin pigmentación del medio de cultivo y lleno caja a los 10 días. Características similares a López (2001), García (2012) y Granados (2015)</p> <p>La aparición de estructuras reproductivas fue a los 9 días de inoculación, a los 20 días produjeron media de 21,67 estructuras reproductivas/cm² y presentó un área promedio de crecimiento de estructuras reproductivas de 0,67 cm² sobre el medio de cultivo.</p>		<p>Presenta hifas vegetativas, hialinas, septadas e irregulares de diferente grosor y con diferentes núcleos en las hifas, asimismo se observa que las hifas presentan una división paralela y en el medio una hifa perpendicular. Características semejantes a las descritas por Arciniegas, (2021) y Wang y Avelino, (1999).</p>	

Anexo 4. Ensayo dual para controlar *M. citricolor* con fungicida químico y 5 aislados de *Trichoderma*

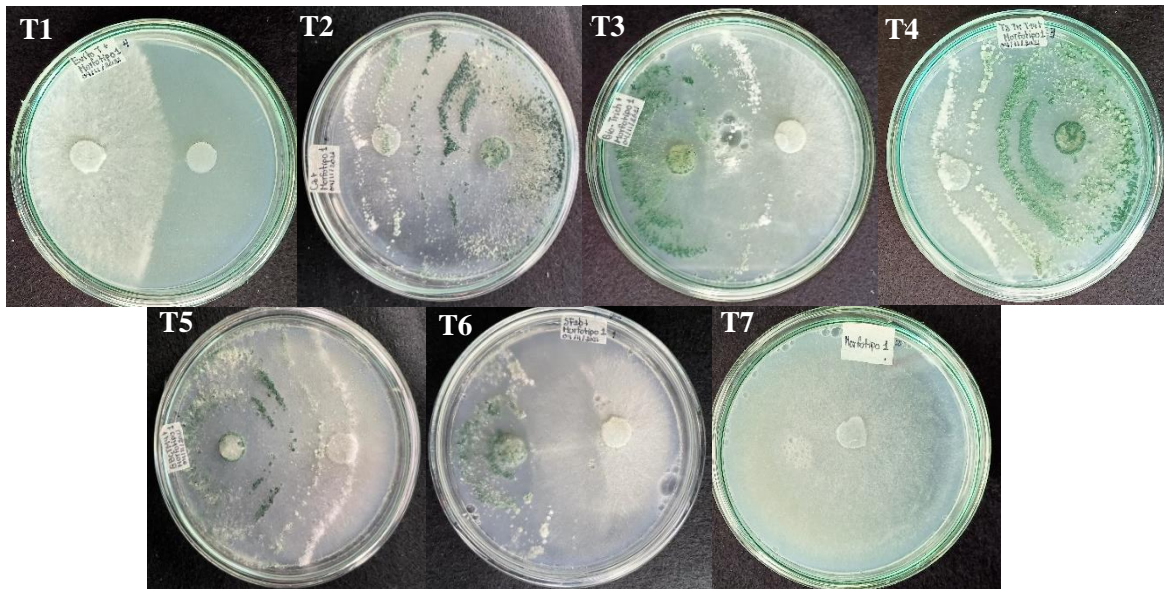


Figura 9. Control dual del morfotipo 1 de *M. citricolor* con fungicida y *Trichoderma*: Químico/M1 (T1), *T. harzianum*/M1 (T2), C3/M1 (T3), T3TkT19/M1 (T4), G8CTM4/M1 (T5), SF2b/M1 (T6) y Testigo (T7).

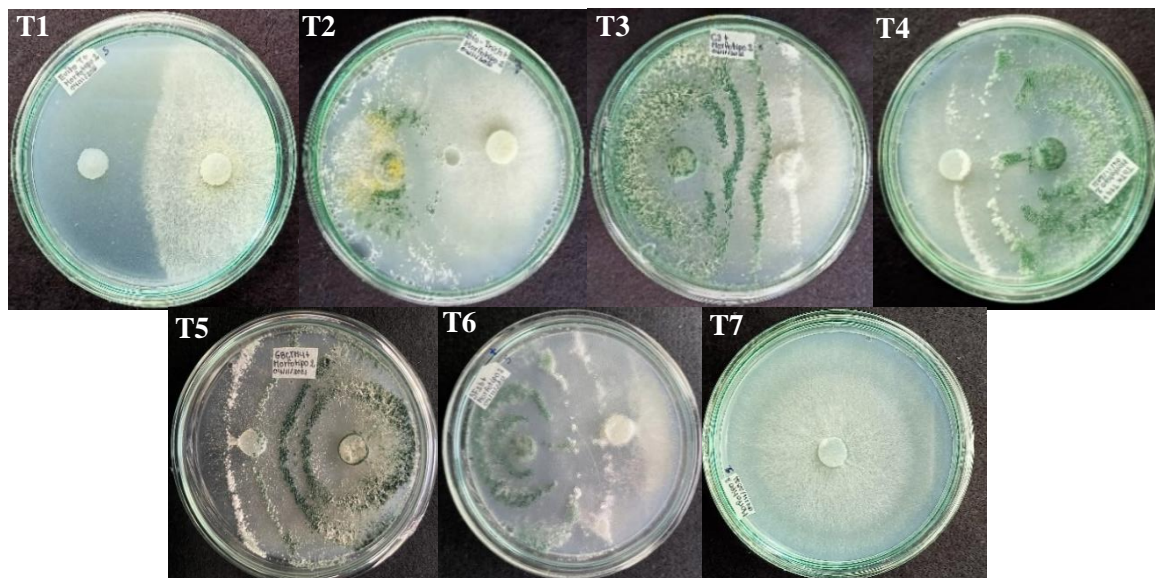


Figura 10. Control dual del morfotipo 2 de *M. citricolor* con fungicida y *Trichoderma*: Químico/M2 (T1), *T. harzianum*/M2 (T2), C3/M2 (T3), T3TkT19/M2 (T4), G8CTM4/M2 (T5), SF2b/M2 (T6) y Testigo (T7).

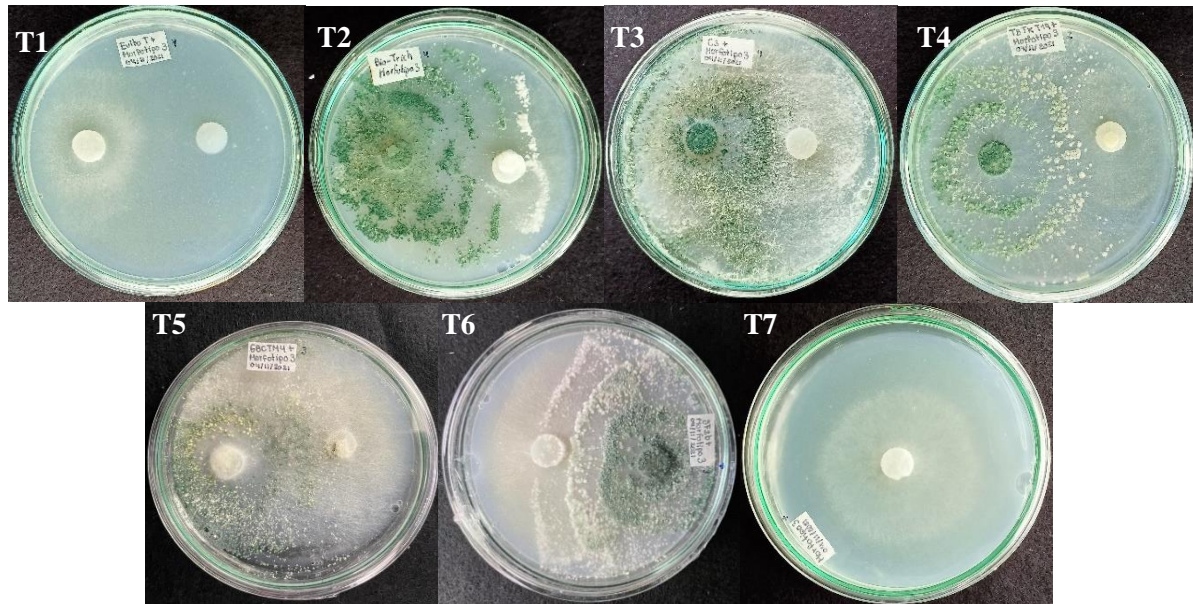


Figura 11. Control dual del morfotipo 3 de *M. citricolor* con fungicida y *Trichoderma*: Químico/M3 (T1), *T. harzianum*/M3 (T2), C3/M3 (T3), T3TkT19/M3 (T4), G8CTM4/M3 (T5), SF2b/M3 (T6) y Testigo (T7).

Anexo 5. Ensayo de concentraciones de *Trichoderma* para controlar *M. citricolor*

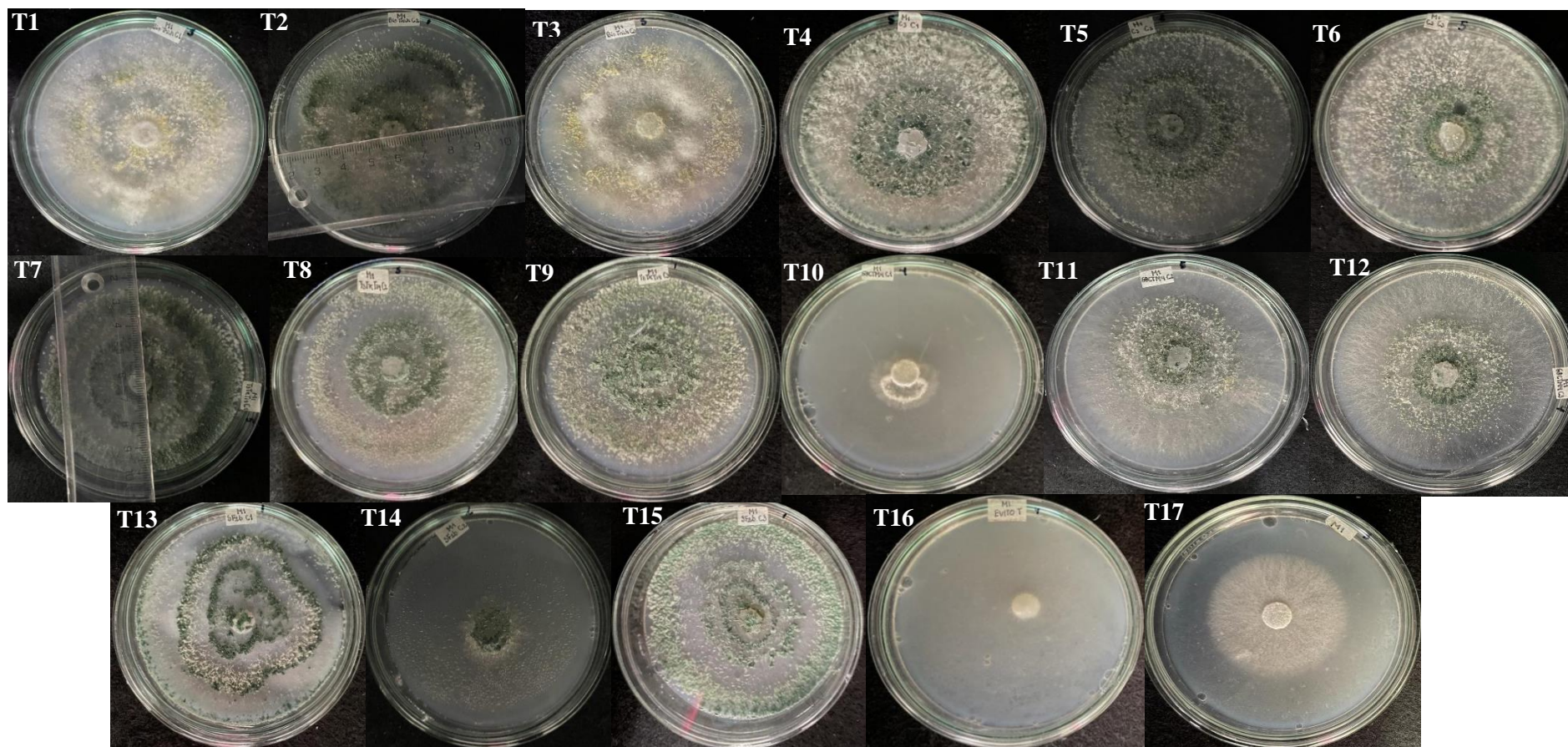


Figura 12. Control del morfotipo 1 de *M. citricolor* con concentraciones de *Trichoderma*: *T. harzianum*/C1 (T1), *T. harzianum*/C2 (T2), *T. harzianum*/C3 (T3), C3/C1 (T4), C3/C2 (T5), C3/C3 (T6), T3Tkt19/C1 (T7), T3Tkt19/C2 (T8), T3Tkt19/C3 (T9), G8CTM4/C1 (T10), G8CTM4/C2 (T11), G8CTM4/C2 (T12), SF2b/C1 (T13), SF2b/C2 (T14), SF2b/C3 (T15), Químico (T16) y Testigo (T17).

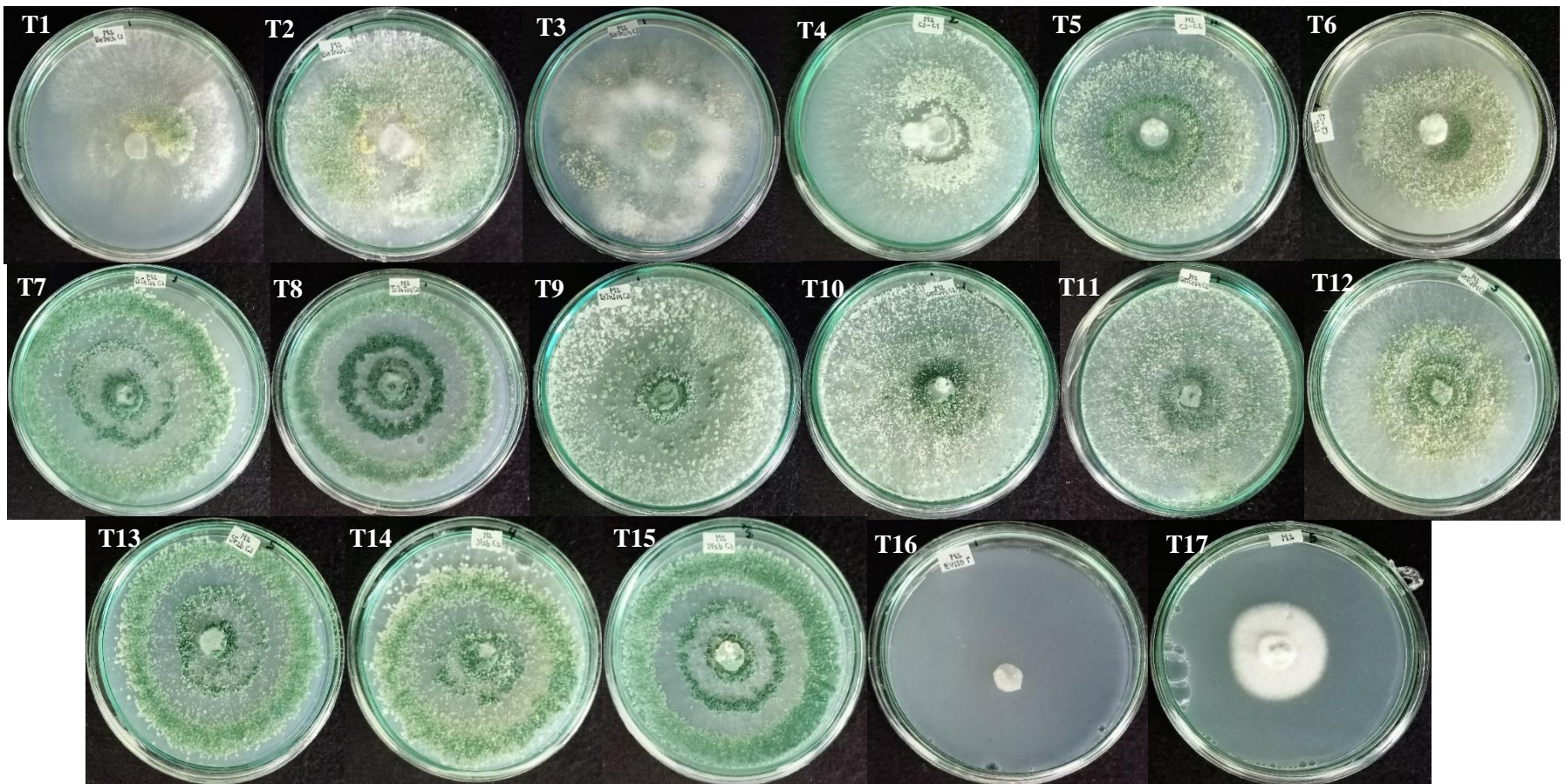


Figura 13. Control del morfofito 2 de *M. citricolor* con concentraciones de *Trichoderma*: *T. harzianum*/C1 (T1), *T. harzianum*/C2 (T2), *T. harzianum*/C3 (T3), C3/C1 (T4), C3/C2 (T5), C3/C3 (T6), T3TkT19/C1 (T7), T3TkT19/C2 (T8), T3TkT19/C3 (T9), G8CTM4/C1 (T10), G8CTM4/C2 (T11), G8CTM4/C3 (T12), SF2b/C1 (T13), SF2b/C2 (T14), SF2b/C3 (T15), Químico (T16) y Testigo (T17).

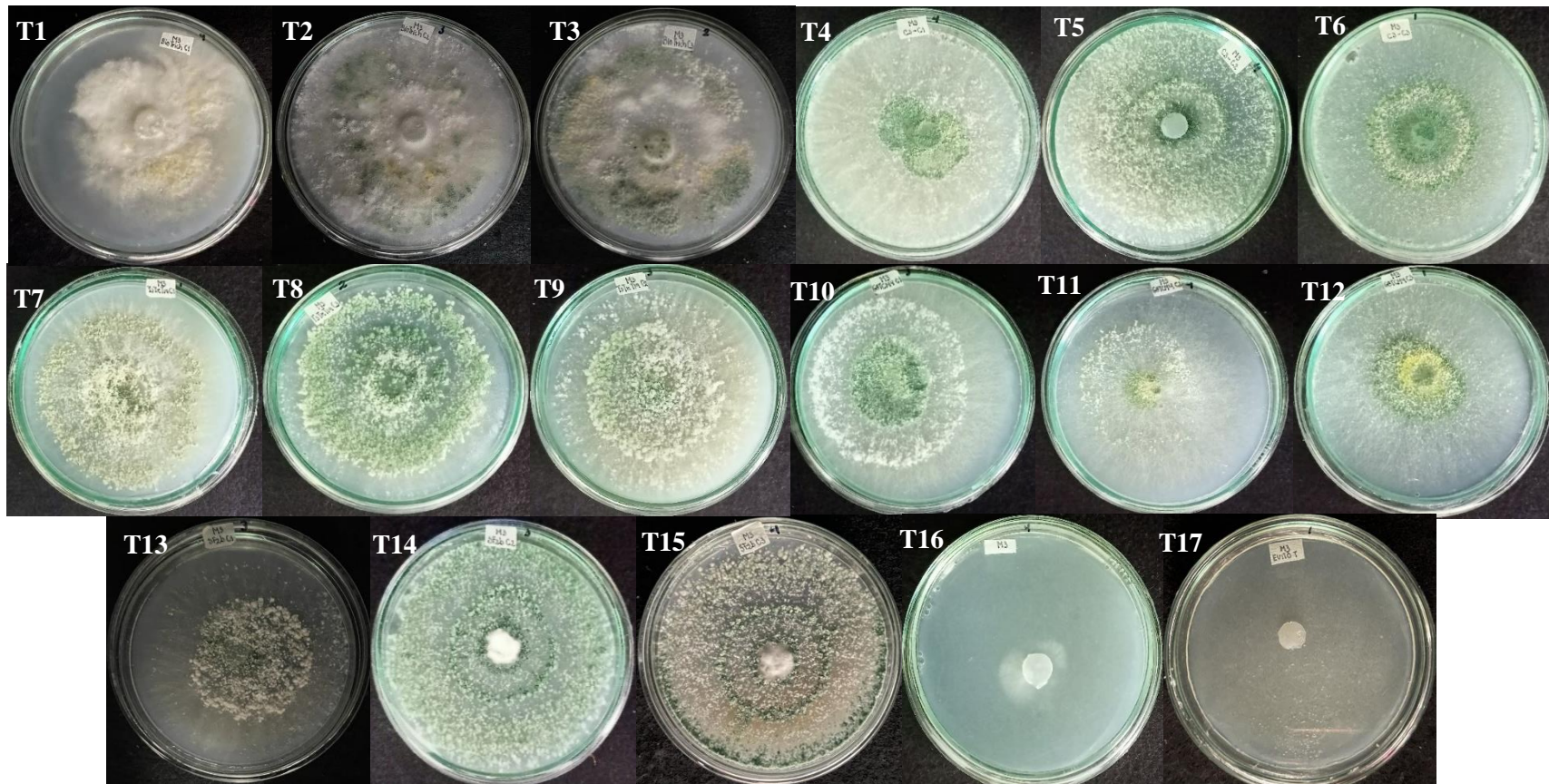


Figura 14. Control del morfotipo 3 de *M. citricolor* con concentraciones de *Trichoderma*: *T. harzianum*/C1 (T1), *T. harzianum*/C2 (T2), *T. harzianum*/C3 (T3), C3/C1 (T4), C3/C2 (T5), C3/C3 (T6), T3TkT19/C1 (T7), T3TkT19/C2 (T8), T3TkT19/C3 (T9), G8CTM4/C1 (T10), G8CTM4/C2 (T11), G8CTM4/C2 (T12), SF2b/C1 (T13), SF2b/C2 (T14), SF2b/C3 (T15), Químico (T16) y Testigo (T17).

Anexo 6. Certificado de traducción del Abstrac

Lic. Ulvia Piedad Jimbo Sarmiento

Licenciada en Ciencias de Educación, mención Idioma Inglés

CERTIFICO:

Que ha traducido minuciosamente el Resumen del trabajo de Titulación denominado: **“CONTROL BIOLÓGICO DEL OJO DE GALLO (*Mycena citricolor* Berk. & Curt.) EN CAFÉ CON *Trichoderma* spp. BAJO CONDICIONES DE LABORATORIO”** de la autoría de la Srta. Damarys Geanine Pereira Sarmiento portadora de la cédula de identidad Nro. 1151116835 previo a la obtención del título de Ingeniera Agrónoma.

Es todo puedo certificar en honor a la verdad, autorizando a la interesada, hacer uso del presente en lo que estime conveniente.

Loja 04 de julio de 2022



.....
Lic. Ulvia Piedad Jimbo Sarmiento