



Ciencia en su PC

ISSN: 1027-2887

manuela@megacen.ciges.inf.cu

Centro de Información y Gestión Tecnológica de Santiago
de Cuba

Cuba

Revilla-Medina, Rubit; Vuelta-Lorenzo, Daniel Rafael; Guerrero-Barriel, Dalgis
**Efecto in vitro de extractos vegetales y *trichoderma harzianum* en el
control de *fusarium oxysporum* aislado de vivero de café (*coffea arabica*)**

Ciencia en su PC, vol. 1, núm. 2, 2020, -Junio, pp. 48-65

Centro de Información y Gestión Tecnológica de Santiago de Cuba
Cuba

Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=181363909004>

- Cómo citar el artículo
- Número completo
- Más información del artículo
- Página de la revista en redalyc.org

UAEH
redalyc.org

Sistema de Información Científica Redalyc

Red de Revistas Científicas de América Latina y el Caribe, España y Portugal

Proyecto académico sin fines de lucro, desarrollado bajo la iniciativa de acceso
abierto

**EFFECTO IN VITRO DE EXTRACTOS VEGETALES Y *TRICHODERMA*
HARZIANUM EN EL CONTROL DE *FUSARIUM OXYSPORUM* AISLADO DE
VIVERO DE CAFÉ (*COFFEA ARABICA*)**

**IN VITRO EFFECT OF PLANT EXTRACTS AND *TRICHODERMA*
HARZIANUM ON THE CONTROL OF *FUSARIUM OXYSPORUM* ISOLATED
FROM SEEDLING COFFEE (*COFFEA ARABICA*)**

Autores:

Rubit Revilla-Medina, cpc@megacen.ciges.inf.cu¹

Daniel Rafael Vuelta-Lorenzo, dvuelta@uo.edu.cu. Universidad de Oriente,
Facultad de Ingeniería Química y Agronomía. Santiago de Cuba, Cuba.

Dalgis Guerrero-Barriel, cpc@megacen.ciges.inf.cu¹

¹Laboratorio Provincial de Sanidad Vegetal de Santiago de Cuba. Santiago de
Cuba, Cuba.

RESUMEN

Esta investigación se hizo para evaluar el efecto de extractos vegetales de nim (Azadirachta indica A. Juss), pulsiana (Melia azederach Lin), salvia (Salvia officinalis L) y cepa de Trichoderma harzianum frente a Fusarium oxysporum aislado de este cultivo, en condiciones in vitro. Se utilizaron las concentraciones de 0.6 %, 1.25 % y 1.9 % de extractos vegetales y la cepa de harzianum. Se realizaron tres experimentos con cinco tratamientos y uno con siete tratamientos, todos contenían un control absoluto y otro relativo correspondiente a T. harzianum. Se midió el diámetro de colonia del patógeno y se determinó el Porcentaje de Inhibición de Crecimiento Radial (PICR). Se empleó un diseño completamente aleatorizado. En la evaluación de los tratamientos se obtuvieron diferencias significativas entre ellos. El mayor porcentaje de inhibición del patógeno lo logró el extracto de nim y el control relativo Trichoderma harzianum, seguidos por el extracto de pulsiana y luego la salvia, en menor grado. En todos ellos a medida que se aumenta la concentración es mayor el PICR.

Palabras clave: extractos vegetales, trichoderma harzianum, fusarium oxysporum, café (coffea arabica).

ABSTRACT

This research is carried out to determine the effect of plant extracts of Neem (Azadirachta indica A. Juss), Pulsiana (Melia azederach Lin), Sage (Salvia officinalis L) and strain of Trichoderma harzianum against Fusarium oxysporum isolated from this crop, under in vitro conditions. The concentrations of 0.6 %, 1.25 % and 1.9 % of plant extracts and the strain of T. harzianum were used, three experiments were carried out with five treatments and one with seven treatments, all of them containing an absolute control and another relative one corresponding to T. harzianum. The radial growth and the evaluation of the percentage of spore inhibition (PICR) were determined. With respect to the statistical analysis, a completely randomized design was used. In the evaluation of the treatments significant differences between them were obtained, being the one of greater percentage of inhibition of the pathogen, the extract of Neem and the relative control Trichoderma harzianum, followed the extract of Pulsiana and later the Sage in smaller degree. In all of them, as the concentration increases, the percentage of Radial Growth Inhibition is higher.

Keywords: *plant extracts, trichoderma harzianum, fusarium oxysporum, coffee (coffea arabica).*

INTRODUCCIÓN

El café (*Coffea arabica*) es un cultivo permanente, se siembra y empieza a producir después de tres a cuatro años. Su producción se da una vez al año, durante lo que se llama ciclo cafetalero; la época de corte depende de la zona y la altura. No obstante, como muchos otros cultivos, el café necesita un cuidado responsable y mejorado, debido a que es una plantación propensa al ataque de plagas y enfermedades (Instituto del Café de Costa Rica, Centro de Investigaciones en Café (CICAPE), 2011).

Existen dos especies principales que se cultivan y producen en la actualidad: el grano de café arábica, que abarca entre el 75 % y el 80 % de la producción mundial; y el grano Robusta, que representa alrededor del 30 %, más resistente a plagas y sabor inferior, pero con mayor contenido de cafeína (Capa, 2015).

La sustitución de productos químicos en la agricultura por biopreparados es un paso de avance en el establecimiento de una agricultura libre de cosechas envenenadas, por lo que una de las principales tácticas del manejo integrado es la producción y uso local de bioplaguicidas, así como el uso de alternativas naturales para el control fitosanitario. Ambos factores constituyen, además, un elemento importante en el ahorro de importaciones, línea a seguir en las estrategias del año 2019 para el desarrollo económico del país.

La aparición de daños persistentes por alto grado de infestación en el cultivo del café (*Coffea sp*) en fase de vivero, provocado por *Fusarium oxysporum*, causa pérdidas de gran valor que encarecen la producción de posturas. De ahí que el objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto de extractos vegetales de nim, pulsiana, salvia y *Trichoderma harzianum* frente a *Fusarium oxysporum*, aislado de café (*Coffea sp*), en condiciones *in vitro*.

MATERIALES Y MÉTODOS

El presente trabajo abarcó un período de un año, desde octubre de 2017 hasta octubre de 2018. Comprendió dos etapas, la primera relacionada con la identificación y caracterización de *Fusarium oxysporum* y una segunda etapa correspondiente a la evaluación *in vitro* del efecto de extractos vegetales de nim

(*Azadirachta indica* A. Juss), pulsiana (*Melia azederach* Lin), salvia (*Salvia officinalis* L) y cepas certificadas de *Trichoderma harzianum*, frente al patógeno fungoso *Fusarium oxysporum*.

Identificación y caracterización de *Fusarium* sp.

Del elevado número de muestras recibidas en el laboratorio, el 99 % reflejaba el mismo síntoma. Por esa razón se decidió realizar una inspección técnica a varios viveros de café en la provincia. Todos reflejaron el mismo síntoma en sus posturas. Para la toma de muestras en condiciones de campo se escogió el vivero San Enrique del municipio Songo La Maya, Santiago de Cuba, que presenta un total de 140 000 posturas de café (*Coffea* sp) de la variedad Isla F 6-14. El 70 % presentó afectación en la base del tallo. Se procedió a la toma al azar de diferentes plantas, que fueron colocadas en bolsas de nailon transparentes selladas. En todas las bolsas se describieron los datos necesarios para su análisis en el laboratorio: procedencia, cultivo, variedad, parte de la planta, fase fenológica, tipo de suelo, sistema de riego, tratamientos realizados y sus dosis; así como la persona que tomó la muestra y fecha en que se realizó. Luego fueron trasladadas al Laboratorio Provincial de Sanidad Vegetal para su análisis y diagnóstico.

Las muestras, previamente lavadas con agua corriente, fueron sometidas a un proceso de desinfección, tal y como está establecido.

Simultáneamente se procedió a la elección del material, que se fragmentó en porciones más pequeñas de 2 x 2 mm asépticamente. Estas porciones fueron sembradas en placas petri de 9 cm de diámetro, preparadas con medio de cultivo agar-agua para evitar algún tipo de contaminación. Las placas se incubaron a temperatura de $26 \pm 2^{\circ}\text{C}$ de 24-72 horas hasta observarse el desarrollo de colonias. Se tomaron discos de los márgenes de estas colonias y se colocaron en el medio requerido Papa Dextrosa Agar (PDA) pH 6.5, como antibiótico fue utilizado el cloranfenicol a una concentración de 50 ppm. Se incubó a temperatura $26 \pm 2^{\circ}\text{C}$ durante 7 días hasta lograr la cepa purificada. Las colonias desarrolladas en el medio de cultivo se observaron con el microscopio estereoscópico para determinar características culturales y con el

microscopio óptico para la identificación del patógeno. Se realizaron 150 mediciones de conidios, comparadas con las propias claves de Centre for Agricultural Bioscience International (CABI) (2018).

Del aislamiento obtenido se realizaron cultivos monoconidiales; una sola espora de *Fusarium oxysporum* se obtuvo por el método de dilución en placas y estriando placas. Para ambos métodos se colectó un pequeño raspado de hifas esporulativas de cultivos crecidos en placas con Papa Dextrosa Agar (PDA) en 10 mL de agua destilada estéril en tubos de ensayo. Para la suspensión de esporas inicial se prepararon diferentes diluciones. (Pocasangre et al., 2014).

Los medios de cultivos utilizados agua-agar y PDA se prepararon previamente, cumpliendo los requisitos establecidos en la preparación de medios de cultivo y soluciones.

Se añadió 1 mL de cada una de las diluciones en agar- agua, posteriormente durante una noche se incubaron las placas con la tapa hacia arriba a 25 °C. A la mañana siguiente, bajo el microscopio, se localizaron en las placas conidios germinados y se transfirieron con un escalpelo esterilizado conidios aislados del agar-agua a placas nuevas de 90 mm con PDA (Pocasangre et al., 2014).

Obtención de extractos

El material vegetal nim (*Azadirachta indica* A. Juss), pulsiana (*Melia azederach*, Lin), salvia (*Salvia officinalis* L) se colectó en horas tempranas de la mañana en el municipio Santiago de Cuba. El secado de las hojas se efectuó en una estufa a 35⁰C, luego se molió de forma manual y se tamizó el tamaño de las partículas a 2.5 mm.

Se tomaron 25 g de masa seca en un matraz aforado, añadiendo 100 mL de agua destilada estéril. El contenido fue agitado en zaranda durante 15 min cada 12 h y se mantuvo en maceración por 24 h en la oscuridad. Transcurrido este tiempo se decantó el líquido y se filtró con papel de filtro estéril. Las soluciones madres de los extractos se esterilizaron a través de filtro bacteriológico de membrana, de tamaño de poro de 0.1 µ. A partir de esa solución madre se prepararon diluciones a 0.6 %, 1.25 % y 1.9 %.

Una vez obtenidos los extractos, se procedió a la evaluación *in vitro* de estos y

del entomopatógeno *Trichoderma harzianum* frente a *Fusarium oxysporum*. Esta evaluación fue realizada en la sección de Micología del Laboratorio Provincial Sanidad Vegetal; para ello se utilizó la cepa de *Fusarium oxysporum*, aislada de posturas de vivero de café caracterizadas en condiciones de laboratorio. La cepa de *Trichoderma harzianum* utilizada fue suministrada por el Departamento de Entomopatógenos de la provincia Santiago de Cuba, con una concentración de 2.5×10^9 conidios/mL, con el cumplimiento de los parámetros de calidad.

Los tratamientos consistieron en la utilización de tres concentraciones a 0.6 %, 1.25 % y 1.9 %, un control relativo *Trichoderma harzianum* y un control absoluto (medio de cultivo sin productos). El medio Papa Dextrosa Agar (PDA), luego de ser ajustado su pH a 5.8, fue esterilizado en autoclave a 121°C y 1.2 atmósferas durante 20 minutos. En el flujo laminar se le adicionaron las alícuotas correspondientes de los extractos para obtener las disoluciones deseadas, ajustadas a un volumen final de 50 mL, el cual fue vertido a razón de 10 mL por placa. Para determinar la velocidad de crecimiento se midió el diámetro diario de cada colonia.

Se determinó el Porcentaje de Inhibición de Crecimiento Radial (PICR) mediante la fórmula de Samaniego et al. (1989), citada por (Bernal et al. 2004).

Porcentaje de Inhibición de Crecimiento Radial: $\text{PICR} = (R1 - R2) / R1 \times 100$

R1 y R2: radios mayor y menor, respectivamente, de crecimiento radial del patógeno.

El experimento se organizó bajo un diseño experimental completamente aleatorizado. Se realizaron tres experimentos con cinco tratamientos cada uno y uno con siete tratamientos, para un total de cuatro experimentos. En cada uno de ellos se establecieron dos testigos (absoluto y relativo), se hicieron siete observaciones por tratamientos y tres réplicas. Para conformar el cuarto experimento se tomaron los mejores tratamientos de los tres experimentos anteriores, manteniendo los controles.

Experimento 1

1. Nim 0,6 % de concentración
2. Nim 1,25 % de concentración
3. Nim 1,9 % de concentración
4. *Trichoderma harzianum* (control relativo)
5. Testigo absoluto

Experimento 2

- 1- Pulsiana 0,6 % de concentración
- 2- Pulsiana 1,25 % de concentración
- 3- Pulsiana 1,9 % de concentración
- 4- *Trichoderma harzianum* (control relativo)
- 5- Testigo absoluto

Experimento 3

- 1- Salvia 0,6 % de concentración
- 2- Salvia 1,25 % de concentración
- 3- Salvia 1,9 % de concentración
- 4- *Trichoderma harzianum* (control relativo)
- 5- Testigo absoluto

Experimento 4

1. Nim 0,6 % de concentración
2. Nim 1,25 % de concentración
3. Nim 1,9 % de concentración
4. Pulsiana 1,9 % de concentración
5. Salvia 1,9 % de concentración
6. *Trichoderma harzianum* (control relativo)
7. Testigo absoluto

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los primeros síntomas de *Fusarium oxysporum* en el cultivo del café (*Coffea arabica* var Isla F6-14) se manifestaron como necrosis en la base de los tallos, que muestran una mancha café oscuro con fisuras longitudinales que provocan

un fácil desprendimiento de la epidermis de la raíz. Esto induce a un marchitamiento de las posturas y luego a la muerte de la planta. (Figura 1).



Figura 1. Síntomas de *Fusarium oxysporum* en el cultivo del café (*Coffea arabica* var Isla F 6-14).

Fuente: autores

Al realizar el proceso de identificación descrito anteriormente, se logró el cultivo de colonias con crecimiento muy rápido en medio de cultivo PDA, con micelio aéreo algodonoso, de color blanco a violáceo. Al microscopio estereoscopio fueron observables conidióforos primarios, que surgen lateralmente de las hifas en el micelio aéreo, simples y ramificados; los secundarios, irregulares y verticilados. Células conidiógenas monolocales, subcilíndricas, muy cortas, de 8 – 14 x 2.5 -3.0 μm ; abundantes microconidios, que son esporas hialinas formadas en falsas cabezas de 0 - 2 septo, de 4.0 - 24 x 2.0 - 4.5 μm , desarrolladas sobre fiálides laterales o conidióforos poco ramificados.

Los macroconidios son de pared delgada, fusiformes, largas y moderadamente curvadas en forma de hoz; poseen de 3 - 5 septos longitudinales con célula basal elongada y célula apical atenuada de 18 - 62 x 2.2 - 6.0 μm . Clamidiosporas abundantes formadas en hifas y conidios, intercaladas de 7.0 - 11 μm , globosas, de pared ornamentada, dispuestas en pares y cortas cadenas; características que coinciden con lo descrito por Estupiñán y Ossa, (2007).

Evaluación *in vitro* del efecto de extractos vegetales y *Trichoderma harzianum* frente a las poblaciones de *Fusarium oxysporum*

Efecto del extracto de nim (*Azadirachta indica*)

Tabla 1. Efecto de los tratamientos sobre el crecimiento micelial de *Fusarium oxysporum*

No.	Tratamientos	Medias
1	Nim 0,6 %	0,824286 a
2	Nim 1,25 %	0,660000 a
3	Nim 1,9 %	0,511429 a
4	Testigo	3,532857 c
5	Trichoderma	2,860000 b
Es		1.1141

*Letras iguales para $p \leq 5\%$ no difieren estadísticamente

Fuente: autores

El análisis biométrico arrojó que los tratamientos nim-*Trichoderma*-testigo presentan diferencias estadísticas significativas. Para el caso de las tres concentraciones de nim no se observan diferencias entre ellas, aunque biológicamente a mayor concentración existe una disminución en el crecimiento micelial de las colonias de *Fusarium oxysporum*. Con ello se describe el efecto de los tratamientos en las condiciones en que se desarrolló la investigación.

Los resultados expuestos en la tabla 1 permiten correlacionar la actividad antifúngica de las diferentes concentraciones de nim y *Trichoderma harzianum*. Es interesante notar que el menor diámetro de crecimiento de colonia, al utilizar las tres concentraciones de nim, lo obtuvo la del 1.9 %.

Los resultados obtenidos confirman lo mencionado por León (2009), quien expuso una síntesis de diferentes investigaciones realizadas por diversos autores, los cuales demostraron la importancia del extracto de la hoja de nim como fungicida al utilizarlo en pruebas *in vitro* contra *Fusarium oxysporum* en el

cultivo de la pera.

Villa-Martínez et al. (2015), con el uso de extractos vegetales extraídos del nim y la utilización de cepas de *Trichoderma spp*, reflejan la inhibición de colonias de *Fusarium oxysporum*. En su investigación los extractos acuosos de todas las especies vegetales se destacaron con una eficacia mayor del 60 %.

También investigaciones realizadas en Cienfuegos por González et al. (2016) demuestran la actividad antifúngica de extracto de nim a diferentes concentraciones para el control de *Fusarium spp* aislado de semillas.

Para *Trichoderma harzianum* mientras mayor sea su diámetro de crecimiento, mayor efecto antagonista tendrá sobre el patógeno. En este experimento se mantuvo en aumento hasta los siete días, lo que demuestra que el patógeno dejó de crecer mientras que el hongo antagonista ocupó el total de la placa, lo cual refleja la competencia por el espacio y los nutrientes.

La colonización de los sustratos y su rápido crecimiento constituyen características significativas de *Trichoderma spp.*, las que lo hacen un buen competidor por el espacio, fundamentalmente en condiciones *in vitro* (Saravanakumar et al., 2017).

De igual manera en el análisis del Porcentaje de Inhibición de Crecimiento Radial, a partir de los cinco días, se encontró un índice superior al 70 %. El PICR en la concentración de 1.9 % alcanza un 90 %, donde a medida que aumenta la concentración la velocidad de crecimiento se hace menor.

Este resultado se asemeja a los obtenidos por Villarreal (2007), que analizó el PICR de *Colletotrichum gloeosporioides* en investigaciones *in vitro*, para ver su comportamiento frente a diferentes concentraciones de extracto de nim, en las cuales a medida que aumentaba la concentración mayor fue el Porcentaje de Inhibición de Crecimiento Radial, con un 80 % a 1.9 % de concentración del extracto.

Efecto del extracto vegetal de pulsiana (*Melia azederach*)

Tabla 2. Efecto de los tratamientos sobre el crecimiento micelial de *Fusarium oxysporum*

No.	Tratamientos	Medias
1	Pulsiana 0,6 %	1,237143 b
2	Pulsiana 1,25 %	0,994286 b
3	Pulsiana 1,9 %	0,774286 a
4	Testigo	3,532857 d
5	Trichoderma	2,860000 c
Es		1.7451

*Letras iguales para $p \leq 5\%$ no difieren estadísticamente

Fuente: autores

En la tabla 2 se observa una diferencia estadísticamente significativa entre las variables mostradas, para el caso de las concentraciones de 0.6 % y 1.25 % del extracto vegetal de pulsiana no existió diferencia significativa entre ellas.

El experimento mostró biológicamente una disminución del crecimiento micelial del *Fusarium oxysporum* a medida que se aumenta la concentración del extracto vegetal de pulsiana, contrario al testigo absoluto. Son pocas las investigaciones *in vitro* realizadas con pulsiana para el control de *Fusarium spp*, aunque se han realizado algunos estudios de su efecto fungicida en otras especies de hongos.

En pruebas *in vitro* realizadas por Pérez et al. (2011) para ver el comportamiento de *Colletotrichum gloeosporioides* con diferentes dosis de extracto de pulsiana, estos autores señalan que los posibles responsables del efecto antifúngico del extracto y sus fracciones puedan deberse a los metabolitos secundarios presentes en la planta, tales como alcaloides, saponina, taninos y antocianinas y a compuestos como los limonoides (azadiractina), pertenecientes al grupo de los tetranotriterpenos, obtenidos a partir de *Melia azederach*.

Se muestra para este caso que a mayor concentración utilizada existió un menor

crecimiento radial de la colonia del patógeno; por tanto, una mayor inhibición de este. En las dos primeras concentraciones el PICR está entre 60 % - 70 %, para 1.9 % alcanza un 80 % de inhibición de crecimiento.

Efecto del extracto vegetal de salvia (*Salvia officinalis*)

Tabla 3. Efecto de los tratamientos sobre crecimiento micelial de *Fusarium oxysporum*

No.	Tratamientos	Medias
1	Salvia 0,6 %	1,540000 b
2	Salvia 1,25 %	1,071429 b
3	Salvia 1,9 %	0,714286 a
4	Testigo	3,532857 d
5	Trichoderma	2,860000 c
Es	1.1871	

*Letras iguales para $p \leq 5\%$ no difieren estadísticamente

Fuente: autores

La tabla 3 refleja los resultados estadísticos obtenidos con las concentraciones de salvia analizadas, así como con el control relativo *Trichoderma harzianum* y el testigo absoluto, donde existieron diferencias estadísticas significativas entre ellas; no así entre las concentraciones 0.6 % y 1.25 %, por lo que a mayor concentración mayor actividad antifúngica. De la misma manera se refleja la actividad antifúngica de *Trichoderma harzianum* como control relativo, con significación estadística entre ellos.

Vázquez (2009) hacen referencia a la actividad como antiséptico de la hoja de salvia, que también posee acción antibacteriana y fungicida contra fitopatógenos debido principalmente a su aceite esencial y acción antiviral. Esto se debe a su riqueza en compuestos diterpénicos, que poseen gran cantidad de esencia rica en alcanfor, cineol y otras sustancias aromáticas, además de contener taninos y ciertas sustancias amargas.

Las hojas de la salvia (*Salvia officinalis* L.), según lo planteado por Martínez

(2013), contienen de 1 a 2,8 % de aceite esenciales. Sus antecedentes farmacológicos indican que se pueden utilizar para tratar los hongos que habitualmente atacan a las naranjas, que llevan a la descomposición de estas frutas. Este aspecto explica los resultados obtenidos.

En análisis realizado por Martínez et al. (2013) con extracto de salvia, se obtuvieron resultados parecidos a los observados anteriormente. Estos demostraron el efecto inhibitorio de extracto de salvia en pruebas *in vitro* sobre las cepas de patógenos fungosos que causan podredumbre al cultivo de cítrico, como son *Aspergillus niger*, *Penicillium digitatum* y *Penicillium italicum*.

Gimeno (2016) en su estudio *in vitro* con diferentes extractos utiliza la salvia, de la cual verifica su contenido de fenoles y capacidad antioxidante y demuestra una inhibición del crecimiento fúngico, aunque a concentraciones elevadas, más notable entre 10 – 20 %.

De igual manera a medida que aumenta la concentración del extracto, la velocidad de crecimiento de *F. oxysporum* disminuye. En el análisis del Porcentaje de Inhibición de Crecimiento Radial, a partir de los cinco días, se encontró un índice de un 55 %, el PICR en la concentración de 1.9 % alcanza un 60 %.

Efecto del extracto vegetal de nim (*Azadirachta indica*), pulsiana (*Melia azederach*), salvia (*Salvia officinalis*) y *Trichoderma harzianum*

Tabla 4. Efecto de los tratamientos sobre crecimiento micelial de *Fusarium oxysporum*.

No.	Tratamientos	Medias
1	Nim 0,6 %	0,716387 a
2	Nim 1,25 %	0,650000 a
3	Nim 1,9 %	0,502587 a
4	Pulsiana 1,9 %	0,765326 ab
5	Salvia 1,9 %	0,9 12846 ab
6	Trichoderma	2,900000 bc
7	Testigo	3,826767 c
Es	0.6141	

*Letras iguales para $p \leq 5\%$ no difieren estadísticamente

Fuente: autores

En la tabla 4 se analiza el efecto de las mejores concentraciones de nim, pulsiana, salvia, *Trichoderma harzianum* y testigos sobre el crecimiento micelial de *Fusarium oxysporum*. Se aprecia que existen diferencias estadísticamente significativas de los extractos vegetales en relación con el testigo. Se muestra que de los tres extractos analizados la mayor acción inhibitoria para la cepa de *Fusarium oxysporum* la obtuvo el extracto de nim en todas sus concentraciones, al igual que el comportamiento con *T. harzianum*.

En cuanto a la concentración de 1.9 % de pulsiana y salvia, entre ellas no se muestran diferencias estadísticamente significativas con *Trichoderma harzianum*, aunque se evidencia biológicamente que con la concentración de pulsiana el diámetro de la colonia del patógeno es ligeramente menor.

Los resultados obtenidos con *Trichoderma harzianum* evidencian sus diferentes mecanismos de acción, tales como competencia por el sustrato, micoparasitismo y la antibiosis frente a cepas de diferentes patógenos fungosos. Reyes et al. (2007) corroboran a través de sus experimentos la efectividad antagónica y

micoparasítica de *Trichoderma* para el control de *Pyricularia grisea* y *Rhizoctonia solani* aislados de arroz.

Según Herrera et al. (2017) las especies de *Trichoderma* han sido identificadas como los agentes potenciales de biocontrol de patógenos fungosos de muchas plantas. Lo anterior ha sido citado también por Kuzmanovska et al. (2018).

Resultados recientes obtenidos por Cusi & Vanessa (2018) afirman el efecto antagonista de *Trichoderma*, al demostrar en pruebas *in vitro* frente a *Fusarium oxysporum* aislado de cebolla su alta capacidad antagónica y un alcance de PICR de un 97,4 %.

Como se ha explicado anteriormente, el extracto acuoso del nim tiene una acción inhibidora marcada sobre *Fusarium oxysporum* en condiciones *in vitro*. Estos resultados confirman los obtenidos por Águila et al. (2011), que alcanzaron con el extracto de nim una respuesta positiva frente al hongo *Macrophomina phaseolina*, con efectividades superiores al 60 % en todos los momentos evaluados.

CONCLUSIONES

- 1- El patógeno fungoso identificado y caracterizado en posturas de café var Isla F6 - 14 correspondió a *Fusarium oxysporum*.
- 2- El mayor PICR lo obtuvo el extracto de nim en todas sus concentraciones, unido a *T. harzianum*; seguido por las mayores concentraciones de pulsiana y salvia.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Águila, R.; Almarales, M. & Lorenzo, M.E. (2011). Efectividad biológica *in vitro* de extractos naturales de plantas en el control del hongo *Macrophomina phaseolina* aislado de semillas de habichuela. *Revista Científica Agroecosistemas*, 3(1), 379-386.
<https://aes.ucf.edu.cu/index.php/aes/article/view/24>.
- Bernal, A.; Andreu, C. & Moya, M. (2004). *Utilización de Trichoderma spp. como alternativa ecológica para el control de Fusarium oxysporum sp. cubense (EF Smith) Snyder & Hans. en Cuba.* (2004).
<http://www.virtualcentr.org/es/enlIBTJ%20Tallr/bernalalezander.htm>

Capa Mora, E. (2015). *Efecto de la fertilización orgánica y mineral en las propiedades del suelo, la emisión de los principales gases de efecto invernadero y en las diferentes fases fenológicas del cultivo de café (Coffea arabica L.)* (Tesis previa al título de Doctor en Manejo y Gestión de Recursos). Universidad Politécnica de Madrid. <http://oa.upm.es/36539/>

Centre for Agricultural Bioscience International (CABI). (2018). *Crop Protection Compendium*. <https://www.cabi.org/cpc/>

Cusi, L. & Vanessa. D. (2018). *Aislamiento y efecto antagonista “in vitro” de Trichoderma spp. frente a Fusarium sp. del cultivo de cebolla de los distritos de Santa Rita de Siguan y de Tiabaya– Arequipa-2018*. <http://repositorio.unsa.edu.pe/handle/UNSA/6775>

Estupiñán Rodríguez, H. y Ossa Canencio, J. A. (2007). *Efecto del agente causal de la marchitez vascular de la Uchuva (Physalis peruviana L.) el hongo Fusarium oxysporum Schlecht, sobre algunas solanáceas y otras especies cultivadas afectadas por formas especiales del microorganismo* (Trabajo de grado). Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá. <http://hdl.handle.net/10554/8319>

Gimeno Aguirregomez, J.R. (2016). *Determinación de la composición química y actividad antifúngica de extractos vegetales obtenidos de Hypericum perforatum, Valeriana officinalis, Chamaemelum nobile, Achillea millefolium y Salvia officinalis* (Tesis de Maestría). Universidad de Zaragoza, Facultad Veterinaria. <https://zaguan.unizar.es/record/57952/files/TAZ-TFM-2016-1032.pdf>

González García. V.; Lorenzo Nicaio, M.E.; Castellanos González, L.; Jiménez Carbonel, R. (2016). Efectividad técnica in vitro de cuatro extractos vegetales contra hongos patógenos en semillas de habichuela. *Revista científica Agroecosistemas*, 4(2), 23-29. <http://aes.ucf.edu.cu/index.php/aes/index>

Herrera-Parra, E.; Cristóbal-Alejo, J. & Ramos-Zapata, J. A. (2017). Trichoderma strains as growth promoters in Capsicum annuum and as biocontrol agents in Meloidogyne incognita. *Chilean journal of agricultural research*, 77(4), 318-324. <https://dx.doi.org/10.4067/S0718-58392017000400318>

Instituto del Café de Costa Rica, Centro de Investigaciones en Café (CICAPE) (2011). *Guía Técnica para el Cultivo del Café*. <http://www.icafe.cr/wp-content/uploads/cicafe/documentos/GUIA-TECNICA-V10.pdf>

Kuzmanovska, B.; Rusevski, R.; Jankulovska, M. & Oreshkovikj, K.B. (2018). Antagonistic

activity of *Trichoderma asperellum* and *Trichoderma harzianum* against genetically diverse *Botrytis cinerea* isolates. *Chilean journal of agricultural research*, 78(3), 391-399. <https://dx.doi.org/10.4067/S0718-58392018000300391>

León Aroca, R. (2009). *Determinación de los efectos de productos comerciales obtenidos a base de cítricos y de neem para el manejo de sigatoka negra y su agente causal (Mycosphaerella fijiensis Morelet)* (Tesis para optar al título de Ingeniero Agropecuario). Escuela Superior Politécnica del Litoral. Guayaquil, Ecuador. <https://www.dspace.espol.edu.ec/bitstream/123456789/13739/1/D-43266.pdf>

Martínez, B., Infante, D. & Reyes, Y. (2013). *Trichoderma* spp. y su función en el control de plagas en los cultivos. *Revista de Protección Vegetal*, 28(1), 1-11. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1010-27522013000100001&lng=es&tlng=es

Martínez, P.N. (2013). Evaluación del poder antifúngico de los extractos de romero, menta y salvia sobre hongos que atacan a las naranjas. *Revista sobre Estudios e Investigaciones del Saber Académico*, 7(7), 28-32. <http://publicaciones.uni.edu.py/index.php/eisa/article/download/38/26>

Pérez, A., Rojas, J. & Chamorro, A. y Pérez, K. (2011). Evaluación de la actividad antifúngica de *Melia azederach* sobre aislados de *Colletotrichum spp.* *Revista Colombiana De Ciencia Animal-RECIA*, 3(2), 309-320. <https://doi.org/10.24188/recia.v3.n2.2011.400>

Pocasangre, L.; Pérez Vicente, L.; Martínez, E.; Ana Tapia, A. y Guzmán, M. (2014). *Taller de entrenamiento sobre el diagnóstico y caracterización de la marchitez por Fusarium o mal de Panamá*. http://www.musalit.org/viewPdf.php?file=IN100100_spa.pdf&id=12550

Reyes Rondón, T.; Rodríguez Gutiérrez, G.; Pupo Zayas, A.D.; Alarcón Pérez, L. y Limonta Cutiño, Y. (2007). Efectividad in vitro de *Trichoderma harzianum* (Rifai) en el biocontrol de *Rhizoctonia solani* Kühn y *Pyricularia grisea* (Sacc.) en el cultivo del arroz (*Oryza sativa* L.). *Fitosanidad*, 11(1), 29-33. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=2091/209116144006>

Saravanakumar, K., Li, Y., Yu, C., Wang, Q., Wang, M., Sun, J & Chen, J. (2017). Effect of *Trichoderma harzianum* on maize rhizosphere microbiome and biocontrol of *Fusarium* Stalk rot. *Sci Rep.*, 7, Article number 1771. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-01680-w>

Vázquez, J. F. G. (2009). Interés farmacéutico de la" *Salvia officinalis*" y de la" *Euphrasia officinalis*". *Cuadernos del Tomás*, 1, 157-171. <https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/3760677.pdf>

Villa-Martínez, A.; Pérez-Leal, R.; Morales-Morales, H.A.; Basurto-Sotelo, Moisés, Soto-Parra, J.M. & Martínez-Escudero, E. (2015). Situación actual en el control de *Fusarium* spp. y evaluación de la actividad antifúngica de extractos vegetales. *Acta Agronómica*, 64(2), 194-205. <https://dx.doi.org/10.15446/acag.v64n2.43358>

Villarreal, D. (2007). Evaluación in vitro de la actividad antimicrobiana de extractos vegetales de *Azadirachta indica* y *Melia azedarach* contra *Burkholderia glumae* y *Colletotrichum gloeosporioides*. (Trabajo de grado). Universidad de Sucre, Facultad de Educación y Ciencias Sincelejo-Sucre. <http://repositorio.unisucra.edu.co/handle/001/612>

Recibido: 11 de noviembre de 2019

Aprobado: 30 de enero de 2020