

Eficacia de aceites esenciales de plantas de la familia Myrtaceae en el control de la Roya del café

Rosalba Rodríguez-Peña^{1,2,3}, Máximo Mejía^{2,4}, Rosina Taveras^{1,2} y Quisqueya Pérez^{1,5}

¹Investigadora de la Facultad de Ciencias Agronómicas y Veterinarias, Universidad Autónoma de Santo Domingo, Santo Domingo, DO y ²Ministerio de Agricultura, Santo Domingo, DO. ³Departamento de Fitopatología, Nebraska Center for Virology, University of Nebraska-Lincoln, Lincoln, USA. ⁴Instituto de Innovación en Biotecnología e Industria, Santo Domingo, DO. ⁵Instituto Dominicano del Café (Indocafe). Correo electrónico: rosalbarodriguezp@hotmail.com

RESUMEN

Hemileia vastatrix Berk. & Broom causa una de las royas más devastadora del mundo, afectando al cultivo del café en climas tropicales y subtropicales. Este hongo provoca lesiones foliares reduciendo la capacidad fotosintética, y como consecuencia, el rendimiento del fruto. El manejo de esta enfermedad está basado en fungicidas químicos sintéticos, los cuales son costosos y contaminan el medio ambiente. Además, la generación de razas de roya resistente a los fungicidas comerciales ha provocado epidemias económicamente importantes en Centro América y el Caribe. En esta investigación se evaluó la efectividad de los aceites esenciales de plantas de la familia Myrtaceae CA- *Myrcianthes montana*, CAN- *Pimenta haitiensis*, O- *Pimenta ozua*, OV- *Myrcianthes fragans*, PG- *Pimenta racemosa* var. *Grisea*, SI- *Eugenia lindahlia*, TA- Testigo absoluto (agua) y TQ- testigo químico (propiconazole), en el control de la Roya del café. Se evaluó la germinación de la uredosporas en medio de cultivo con aceites esenciales al 0.02 %, se encontró que en los aceites esenciales de CA, O y SI, la germinación de las uredosporas solo fue de 3-5 %, con diferencias significativas, al ser comparadas con TA (agua). Al evaluar la severidad *in vivo*, el número de lesiones y lesiones esporuladas, el aceite esencial de OV resultó ser el más promisorio en el control de la roya, encontrándose diferencias estadísticas significativa de $p < 0.05$. Estos son los primeros resultados en demostrar la efectividad de aceites esencial de plantas nativas y endémicas de la República Dominicana, para el control de la enfermedad Roya del café.

Palabras claves: germinación, severidad, plantas endémicas, Ozua de Oviedo, *Myrcianthes fragans*.

ABSTRACT

Hemileia vastatrix Berk. & Broom, causes one of the most devastating rusts in the world, affecting coffee cultivation in tropical and subtropical climates. This fungus causes foliar lesions, reducing the photosynthetic capacity, and consequently, the fruit yield. The disease 's management is based on synthetic chemical fungicides, which are expensive and polluted the environment. Besides, they are coffee rust's races already resistant to commercial fungicides that have caused economically significant epidemics in Central America and the Caribbean. In this research, the effectiveness of essential oils from plants of the Myrtaceae family CA- *Myrcianthes montana*, CAN- *Pimenta haitiensis*, O- *Pimenta ozua*, OV- *Myrcianthes fragans*, PG- *Pimenta racemosa* var. *Grisea*, SI- *Eugenia lindahlia*, TA- Absolute control (water) and TQ- chemical control (propiconazole), in the control of coffee rust. The germination of the uredospores in culture medium with essential oils at 0.02% was evaluated, it was found that in the essential oils of CA, O and SI, the germination of the uredospores was only 3-5%, with significant differences, when be compared with TA (water). When evaluating the severity *in vivo*, the number of lesions and sporulated lesions, the essential oil of OV turned out to be the

most promising in the control of rust, finding significant statistical differences of $p < 0.05$. These are the first results to demonstrate the effectiveness of essential oils from native and endemic plants of the Dominican Republic, for the control of coffee rust disease.

Key words: germination, severity, endemic plants, Ozua de Oviedo, Myrcianthes fragan.

INTRODUCCIÓN

El café (*Coffea arabica* L.) es un producto básico importante en la economía mundial, con aproximadamente 70 países dedicados a este cultivo, dentro de los que se encuentran: Brasil, Vietnam, Colombia e Indonesia, Cafeverde (2017). A pesar de que la República Dominicana es el 27^{vo} productor de esta baya, y que en el 2019 consumió 340,000 quintales (qq), el país solo produjo 140,000 qq. (Reyes, 2019). Lo que, en comparación con 400,000 quintales en el año 2000, fue una reducción significativa en la producción, Peñaló y Ramírez (2017). El decremento de la producción se estima estar relacionada con los efectos del cambio climático, escasez de recursos económicos de los productores, afectando su competitividad, y el aumento de la incidencia y severidad de plagas en el cultivo, FAO (2014). El número de productores pasó de 70,000 en el año 1981 a 50,000 en el año 2007, Diario Libre (2012).

El café es un arbusto susceptible al ataque principalmente de la Broca del café (*Hypothenemus hampei*, Coleóptero: Curculionidae) y la Roya del cafeto (*Hemileia vastatrix* – fungi: Pucciniales). Siendo la roya la principal enfermedad del cultivo debido a la reducción de la capacidad fotosintética, afectando la producción de granos, que provoca pérdidas de hasta un 100%, cuando no se implementa ningún manejo (Garçon *et al.* 2004, Zambolim *et al.* 2000, Godoy *et al.* 2011, Chaves 1985 y Carvalho *et al.* 2011).

En los últimos años, la roya se ha extendido drásticamente y a finales del año 2010 una raza más agresiva provocó epidemias considerables, no solo en la República Dominicana, sino también en el mundo, causando reducción del 53% de las áreas cultivadas de Centroamérica y dejando sin sustento a familias vulnerables en la República Dominicana (OIC 2014 y FAO 2014).

Como medios alternativos para el manejo de la Roya del cafeto, se emplea el manejo genético y los controles químico, biológico y cultural. El manejo genético se realiza mediante el uso de variedades tolerantes y/o resistentes, es el más factible, sin embargo, en la mayoría de los casos, no es accesible al productor promedio. El control químico, a través de la utilización de fungicidas, es el método con más aceptación y más utilizado, Manchego *et al.* (1995). Sin embargo, algunos plaguicidas químicos tienen restricciones de uso en muchos países, por razones toxicológicas y ambientales, debido a los residuos en el suelo, contaminación de las aguas superficiales y subterráneas y, además, a que eliminan organismos benéficos, Del Puerto (2014).

Una de las estrategias promisorias utilizadas para el manejo de enfermedades es el uso de plaguicidas botánicos, Bolívar *et al.* (2009). Los plaguicidas botánicos, además de reducir las pérdidas económicas por plagas, disminuyen los problemas de contaminación en el ambiente, en los animales y en la salud humana (Staufer *et al.* 2000, Rodríguez y Montilla 2002, Zapata *et al.* 2003, Araujo *et al.* 2008, Rodríguez y Sanabria 2005 y Henríquez *et al.* 2005).

Los plaguicidas botánicos pueden ser preparados en forma acuosa, alcohólica y etérea, entre la más comunes. Los extractos de las plantas pueden contener: flavonoides, fenoles, terpenos, aceites

esenciales, alcaloides, lecitinas y polipéptidos, los cuales han sido reportado poseer efectos antimicóticos (Cowan 1999, Hernández *et al.* 2007 y Chávez *et al.* 2012).

Como una respuesta a la necesidad de alternativas no química/sintéticas para el control de la Roya del cafeto, en esta investigación se estudiaron los efectos de los aceites esenciales de plantas de la familia Myrtaceae para su control.

MATERIALES Y MÉTODOS

Esta investigación se realizó en el Laboratorio de Control Biológico de la Facultad de Ciencias Agronómicas y Veterinarias de la Universidad Autónoma de Santo Domingo (UASD), en el período 2016 al 2017.

Prueba *in vitro*

Preparación de los aceites esenciales

La extracción de los aceites esenciales fue realizada de hojas de las diferentes especies de la familia Myrtaceae, descritas en los tratamientos. Las hojas fueron secadas a la sombra hasta deshidratarse. Las hojas fueron trituradas usando el molino tipo Thomas –Wiley, modelo 4, con un screen de 3mm, se extrajeron los aceites esenciales utilizando el método de arrastre de vapor, en laboratorios de la Escuela de Farmacia, Facultad de Ciencias de la Universidad Autónoma de Santo Domingo UASD), en Santo Domingo, DO.

Aislamientos fúngicos

Las uredosporas del hongo se obtuvieron de plantas de café, variedad 'Caturra'. Las pústulas fueron colectadas y transportadas en neveras portátil llevándose al laboratorio. Las uredosporas fueron desprendidas mediante el uso de un cepillo de cerdas suaves, depositándose en microtubos con Tween- 80 hasta su uso, Pereira *et al.* (2012).

Preparación de los medios

Los medios de cultivo fueron preparados en base a agar/agua (2.0 g/L). Una vez esterilizado a 121 °C por 15 minutos, se esperó que la temperatura descendiera a menos de 40 °C, agregándose penicilina (0.04 g/L) y estreptomycin (0.22 g/L), para la inhibición de crecimiento bacteriano. Los aceites fueron agregados durante la agitación continua a una concentración de aceites al 15 %, Figura 1.

Inoculación

Se inocularon platos de Petri con 300 microlitros (ul) de solución de uredosporas al 0.02%, incubándose por 32 horas en la oscuridad a una temperatura de 23 °C. (Mejía 2017 y Subramani 2012).

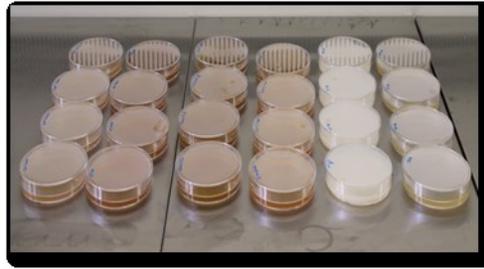


Figura 1. Medios de cultivos preparados y solidificados

Variable evaluada

Germinación

Se realizó el conteo de 25 esporas por cada repetición (100 uredosporas por tratamiento), determinándose el porcentaje de germinación mediante la siguiente fórmula:

$$F: \frac{\text{Número de esporas germinadas}}{\text{Número de esporas contadas}} \times 100$$

Plantas utilizadas

Los tratamientos fueron de naturaleza sin estructura y cualitativos, empleándose un diseño completo al azar con cuatro (4) repeticiones y ocho (8) tratamientos. Los tratamientos evaluados fueron los siguientes: CA- *Myrcianthes montana*, CAN- *Pimenta haitiensis*, O- *Pimenta ozua*, OV- *Myrcianthes fragans*, PG- *Pimenta racemosa* var. *Grisea*, SI- *Eugenia lindahlii*, TA-testigo absoluto (agua) y TQ-testigo químico (propiconazole).

Análisis estadístico

Para homogenizar los datos obtenidos en este experimento, los mismos fueron transformados por medio del arcoseno. Además, se utilizó análisis de varianza y prueba de separación de medias de Tukey ($P < 0.05$), utilizando el programa estadístico Infostat, versión 2019.

Prueba *in vivo* – campo

Localización geográfica

El ensayo se instaló en una finca comercial de café, localizada en Arroyo Grande de la sección Santana, Municipio Los Cacaos, provincia San Cristóbal en el sur de la República Dominicana, con una altitud de 950 msnm, en la latitud norte 18.5929, temperatura de 22.5 °C, con 1,050 a 1,400 mm de precipitación de lluvias distribuidos durante todo el año.

Manejo del experimento

Se utilizaron plantas de la variedad comercial 'Caturra', susceptible al hongo causante de la enfermedad Roya del cafeto y de importancia comercial, las cuales fueron obtenidas por semillas. Las plantas fueron germinadas en el vivero de la Facultad de Ciencias Agronómicas y Veterinaria (FCAV), de la Universidad Autónoma de Santo Domingo (UASD), en Engombe, Santo Domingo Oeste. Las plantas fueron llevadas a ser inoculadas de manera natural a los 6 meses de edad.

Aplicación de los tratamientos

Los aceites esenciales fueron aplicados empleando un atomizador manual a una concentración de 1 %, aplicándose hasta el punto de goteo.

Número de lesiones

Se tomaron dos hojas por plantas, en las cuales se contabilizaron semanalmente la cantidad de lesiones, Cenicafe (1998).

Severidad

Se utilizó la escala de grados (Figura 2) para cuantificación del área afectada, midiendo el porcentaje de daño, Díaz (2013).

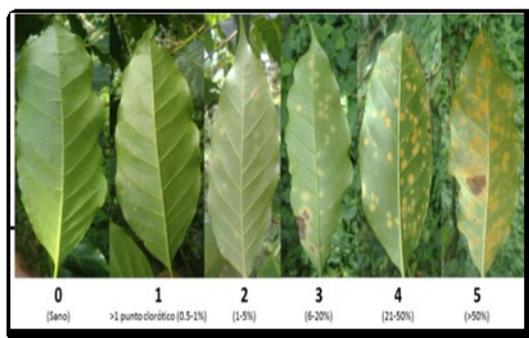


Figura 2. Escala del área afectada en grados por la roya del café según Díaz (2013)

Lesiones esporulantes

Se realizaron evaluaciones visuales, contabilizándose el número de lesiones que presentaban signos de esporulación.

Tratamientos

Se utilizaron las plantas descritas anteriormente en la prueba *in vitro*, con un diseño de bloques al azar con ocho (8) tratamientos y con cuatro repeticiones.

Análisis estadísticos

Los datos de las variables número de lesiones y lesiones esporuladas fueron transformadas mediante el $\sqrt{x+1}$, y para la variable severidad, se utilizó el Log^{10} . Se realizaron los análisis de varianzas y las pruebas de comparación de medias según Tukey (cuando $P < 0.05$), utilizando el programa estadístico Infostat, versión 2019.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La identificación de alternativas eco amigables para el control de plagas en la agricultura es cada vez más necesaria.

Germinación de las uredosporas *in vitro*

En el caso de hongos foliares, los aceites agrícolas son usados como barrera física entre las esporas y las hojas, evitando así la penetración, Bayer (2017). Evaluando el efecto de los aceites esenciales de plantas Myrtaceas sobre la germinación de las uredosporas de Roya del caféto (Figura 3), se encontró que las plantas CA, O y SI, tuvieron una germinación de 3 a 5 %, con diferencias significativas, al ser comparadas con TA (agua), la cual se encontró alrededor de un 40 % de germinación, Figura 4.

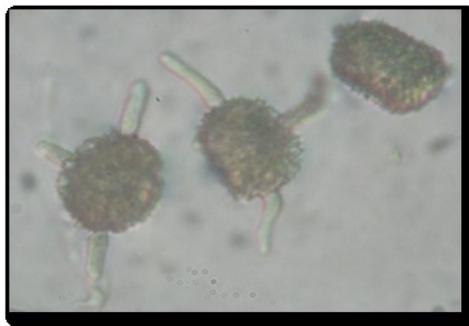
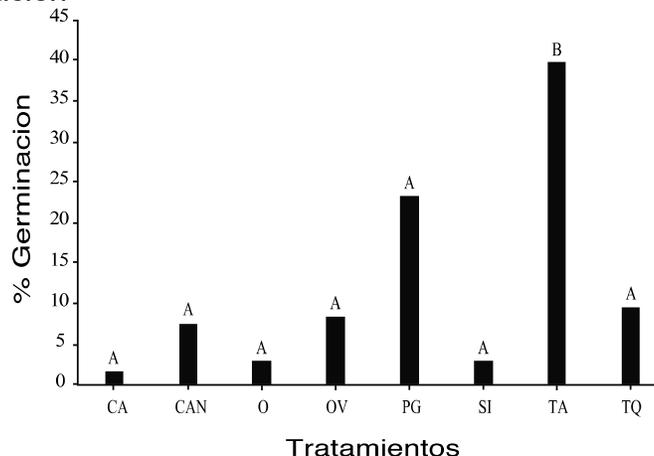


Figura 3. Uredosporas germinadas de la roya del café después de 32 horas en la oscuridad a 23 °C

Resultados similares fueron encontrados por Pereira *et al.* (2012), evaluando aceites de *Melaleuca alternifolia* Cheel, *Cinnamon zeylanicum*, *Cymbopogon citratus* Stapf, *Citronella nardus* (L.) Rendle., *Syzygium aromaticum*, *Corymbia citriodora*, *Azadirachta indica* y *Thyme vulgaris*, determinaron que todas las plantas ejercían cierto control en la germinación del hongo que causa la Roya del caféto, especialmente *C. nardus* y *T. vulgaris*, afectando la vacuolización celular de las uredosporas.

Porcentaje (%) de germinación



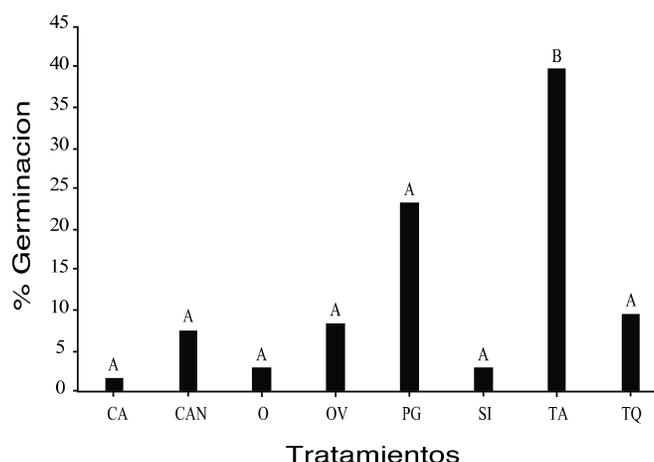


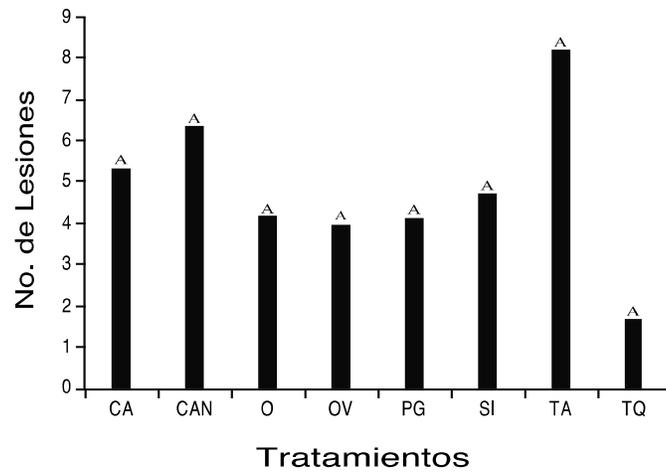
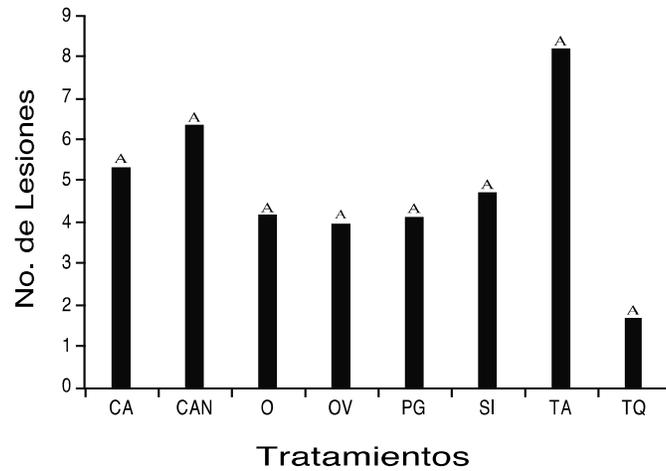
Figura 4. Evaluación del efecto de los aceites esenciales sobre la germinación de uredosporas de la Roya del cafeto, a las 32 horas en la oscuridad a 23 °C

Por otro lado, utilizando aceites esenciales de plantas aromáticas de *Ocimum basilicum* y *O. vulgare* al 2%, Filotheou y Thomidis (2016) demostraron que la germinación del hongo fue reducida hasta un 100 %. En comparación con estos resultados, basados en una dosis de 0.02 %, resalta la necesidad de evaluar los aceites esenciales utilizados en esta investigación a diferentes concentraciones, para determinar el efecto dosis-germinación, así como la fitotoxicidad en las plantas de café. No obstante, tomando los resultados obtenidos, se demostró el efecto negativo que ejercen las plantas de canelilla, Oza y Simirú en la germinación del hongo de la roya.

Severidad y la esporulación de las uredosporas *in vivo*

La evaluación de la incidencia, el área bajo la curva, periodo de incubación y periodo de latencia son comúnmente utilizadas como indicativo de la efectividad en el control de una enfermedad fúngica. Debido a las condiciones agroclimáticas y logística durante esta investigación, se evaluaron las variables, número de lesiones, severidad y lesiones esporuladas de la roya del café. En el número de lesiones, se encontró que a pesar de que no existe diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos, las plantas OV y PG (Figura 5), presentaron menor número, tratamientos 3 y 4, respectivamente, comparados con TA (8).

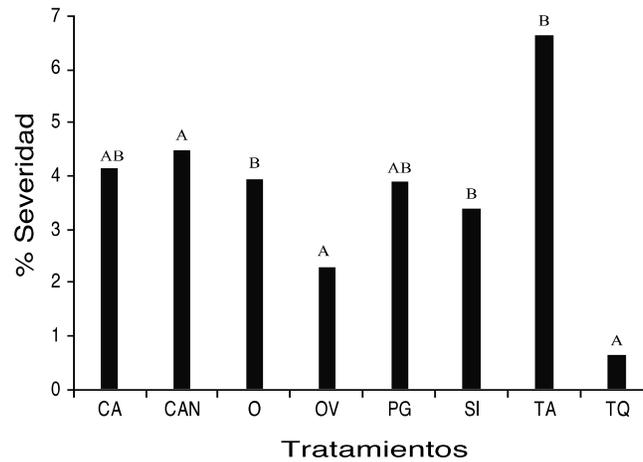
Al evaluarse la severidad de la enfermedad (Figura 6), se observó que la planta OV, nuevamente resultó tener el menor porcentaje, al ser comparado con TA, no habiendo diferencias estadísticas significativas entre OV y TQ. Pereira *et al.* (2012) demostraron que el aceite esencial de *Corymbia citriodora* Hill & Johnson para controlar o reducir la germinación de la roya del café, no tuvo diferencias significativas al ser comparado con el control químico.



No. de lesiones

Figura 5. Número de lesiones de la roya del café contabilizadas en la localidad de Arroyo grande de la sección Santana, municipio Los Cacaos, provincia San Cristóbal, periodo 2016 al 2017

Porcentaje (%) de severidad



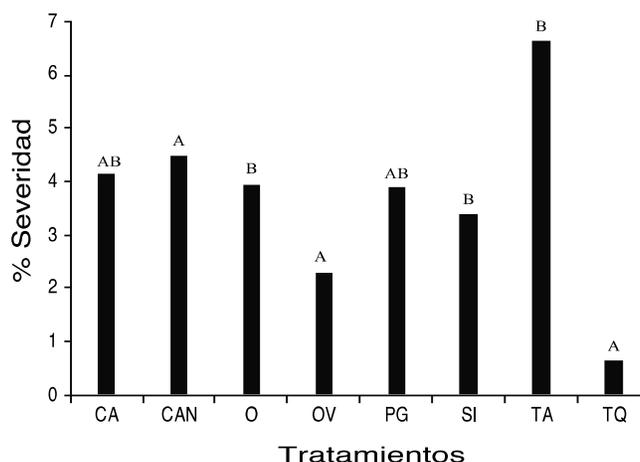


Figura 6. Porcentaje de la severidad de la Roya del cafeto evaluada en la localidad de Arroyo Grande de la sección Santana, municipio Los Cacaos, provincia San Cristóbal, período 2016 al 2017

Por otro lado, Amini *et al.* (2016) evaluando la efectividad de aceites esenciales de *Cymbopogon citratus* para el control de *Phytophthora capsici*, encontraron que el testigo químico superó al tratamiento botánico, reduciendo la severidad al 84 %, versus un 47 %. Los resultados obtenidos en este estudio, sugieren que el uso del aceite esencial de OV, puede ser utilizado para la reducción de la severidad de la roya, no obstante, es necesario validar los resultados en diferentes zonas geográficas.

Durante las evaluaciones, se observó que a pesar que la roya producía lesiones en las plantas tratadas con los aceites, en algunos tratamientos la esporulación resultaba diferente, según el aceites esencial aplicado. Para comprobar el efecto como protectantes o de control, se evaluó el número de lesiones esporulantes, donde el aceite esencial de la planta OV (Figura 8) resultó ser el mejor tratamiento con diferencias estadística significativas con el TA.



Figura 7. Hoja de café de la variedad caturra con pústulas de roya colectadas en la localidad de Arroyo Grande de la sección Santana, municipio Los Cacaos, provincia San Cristóbal, período 2016 al 2017

No. de lesiones esporulantes

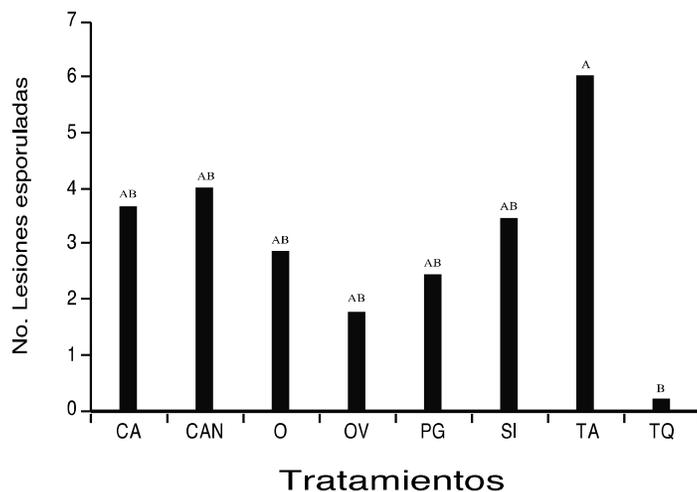
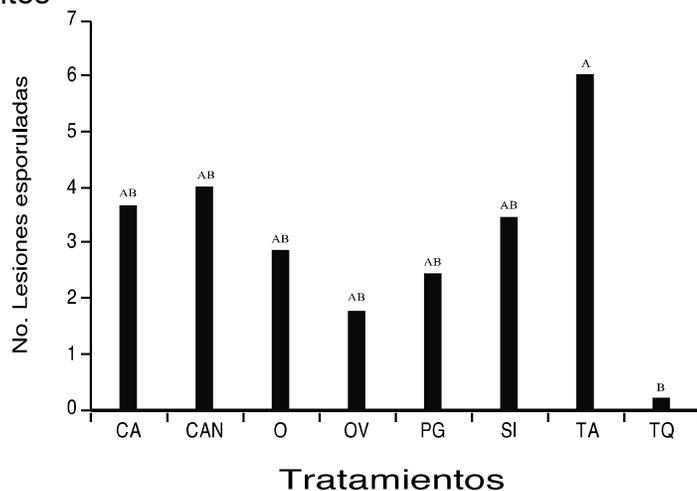


Figura 8. Nivel de esporulación de la roya en la localidad de Arroyo Grande de la sección Santana, municipio Los Cacaos, provincia San Cristóbal, período 2016 al 2017

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

La búsqueda de alternativas eco amigables para el control de plagas agrícolas es una necesidad mundial. Estudios sobre el uso de aceites esenciales trae consigo desventajas, como son: disponibilidad de material, efectividad en diferentes condiciones climáticas, toxicidad del producto, así como la disponibilidad en el mercado. A pesar de las desventajas, el uso de productos químicos sintético es rechazado cada vez más debido al impacto en el medio ambiente, así como a la salud humana y animal. Como alternativa, en este estudio se evaluaron plantas principalmente endémicas, y nativas, para el control de la enfermedad Roya del café. Se encontró que de las plantas evaluadas la OV (*Myrcianthes fragans*), posee las mejores características para ser utilizada en el control de la roya. También, las plantas de PG (*Pimenta racemosa* var. *grisea*) y O (*Pimenta ozua*), ofrecieron cierto control de la roya.

Se recomienda evaluar los productos botánicos en diferentes condiciones agroclimáticas para determinar la efectividad en el control de la Roya del cafeto en diferentes condiciones climática. Además, es necesario determinar la dosis óptima para OV, PG y O. Este es el primer estudio realizado en la República Dominicana que demuestra el efecto de los aceites esenciales de plantas endémicas y nativas en el control de patógenos.

AGRADECIMIENTOS

Esta investigación fue económicamente apoyada por el Fondo Nacional de Innovación y Desarrollo Científico y Tecnológico (Fondocyt) del Ministerio de Educación Superior, Ciencia y Tecnología (Mescyt), y la Universidad Autónoma de Santo Domingo (UASD), mediante el proyecto de investigación *Utilización de plantas endémicas de la flora aromática de la familia Myrtaceae para desarrollar formulaciones de bioproductos para el control de plagas en cultivos de plantas de interés agrícola en la República Dominicana*.

LITERATURA CITADA

Amini, J.; Farhang, V.; Javadi, T.; Nazemi, J. 2016. Antifungal Effect of Plant Essential Oils on Controlling Phytophthora Species. The Plant Pathology Journal 32(1): 16–24. (En línea). Revisado el 31 de octubre 2017. Disponible en:

<https://doi.10.5423/PPJ.OA.05.2015.0091>

Araujo, D.; Rodríguez, D.; Abria, M. 2008. Respuesta del hongo *Fusarium oxysporum* f. sp. cubense, causante del Mal de Panamá, a algunos extractos y fungicidas. Fitopatología Venezolana 21: 2-8.

Bayer. 2017. La batalla contra los hongos tiene un aliado. (En línea). Revisado el 28 de agosto del 2018. Disponible en:

<https://www.redagricola.com/pe/la-batalla-los-hongos-aliado/#:~:text=El%20O%20ADdium%20y%20la%20Botrytis,o%20inhibici%C3%B3n%20de%20estos%20hongos>.

Bolívar, K.; Sanabria, M.; Rodríguez, D.; de Camacaro, M.; Ulacio, D.; Cumana, L.; Crecente, O. 2009. Potencial efecto fungicida de extractos vegetales en el desarrollo in vitro del hongo *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. & Sacc. y de la Antracnosis en frutos de mango. (En línea). Revisado el 18 de diciembre 2014. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/3293940.pdf>

Carvalho, L.; Da Cuna, L.; Naves, S. 2011. Alternativas de Controle de Doenças do Cafeeiro. (En línea). Revisado el 28 de agosto 2014. Disponible en: http://www.sbicafe.ufv.br/bitstream/handle/123456789/7886/Coffee%20Science_v7_n1_p42-49_2012.pdf?sequence=1&isAllowed=y

Chávez, A.; Aquino, S. 2012. Control de los hongos del suelo *Rhizoctonia* sp., *Fusarium* sp. y *Sclerotium* sp. con extractos vegetales. Investig. Agrar. 14(1):17-23. (En línea). Revisado el 20 de marzo 2015. Disponible en:

<https://www.agr.una.py/revista/index.php/ria/article/view/242/228>

Cowan, M. 1999. Plant products as antimicrobial agents. Clin. Microbiol. Rev. 10: 564-582. (En línea). Revisado el 28 de agosto 2014.

Disponible en: <https://journals.asm.org/doi/reader/10.1128/CMR.12.4.564>

Cafeverde. 2017. Los 10 Mayores Productores De Café Del Mundo. (En línea). Revisado el 20 de mayo 2018. Disponible en:

<https://comprarcafeverde.es/2017/09/los-10-mayores-productores-cafe-del-mundo/>

Cristancho, M. 2012. El impacto de la roya del café en la caficultura regional. Federación Nacional de Cafeteros de Colombia (FNC) Centro Nacional de Investigaciones del Café (Cenicafe). (En línea). Consultado el 7 de noviembre 2014. Disponible en:

<http://infocafes.com/descargas/biblioteca/152.pdf>

Del Puerto, A.; Tamayo, S.; Estrada, D. 2014. Efectos de los plaguicidas sobre el ambiente y la salud. Rev Cubana Hig Epidemiol. 52(3): (En línea). Revisado el 07 de noviembre 2014. Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/hie/v52n3/hig10314.pdf>

Diario Libre. 2013. La producción de café en la República Dominicana sería un 33% menos en esta cosecha. (En línea). Revisado el 08 de abril 2015. Disponible en: <https://www.diariolibre.com/economia/la-produccion-de-cafe-en-la-republica-dominicana-sera-un-33-menos-en-esta-cosecha-ANDL414004#:~:text=SANTO%20DOMINGO..gran%20parte%20de%20las%20plantaciones>

FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, IT). 2014. Agro noticias. América Latina y el Caribe. La roya del Café Sigue Haciendo Estragos en Centroamérica. (En línea). Revisado el 18 de febrero 2014. Disponible en:

<https://www.fao.org/in-action/agronoticias/detail/es/c/514105/>

Garçon, C.; Zambolim, L.; Mizubuti, E.; Vale, F.; Costa, H. 2004. Controle da ferrugem do cafeeiro com base no valor de severidade. (En línea). Fitopatologia Brasileira 29:486-491. (En línea). Revisado el 28 de agosto 2014. Disponible en:

<https://www.scielo.br/j/fb/a/kS57TNHQRCykdL6VWx5WW3G/?lang=pt>

Godoy, H.; Oliveira, J.; Thibes, A.; Godoy, L. 2011. Produtos Alternativos no Controle da *Hemileia vastatrix* (Berkeley & Broome) E *Cercospora coffeicola* (Berkeley & Cooke) (En línea). Revisado el 28 de septiembre 2014. Disponible en:

http://www.sbicafe.ufv.br/bitstream/handle/123456789/7915/Coffee%20Science_v7_n2_p187-197_2012.pdf?sequence=1&isAllowed=y

Henriques, L.; D. Rodríguez, M.; Sanabria, E.; Crescente, O. 2005. Inhibición del crecimiento micelial in vitro de *Fusarium oxysporum* f sp lycopersici con extractos de *Opuntia* sp.; *Lippia origanoides* y *Croton rhamnifolius*. (En línea). SABER. 17: 133-134. Revisado el 28 de septiembre 2014. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/612/61223212.pdf>

Hernández, A.; Bautista, S.; Velázquez, M. 2007. Prospectiva de extractos vegetales para controlar enfermedades postcosecha hortofrutícolas. (En línea). Revista Fitotecnia Mexicana 30(2). Revisado el 20 de julio 2010. Disponible en:

<https://www.redalyc.org/pdf/610/61030202.pdf>

Krishnan, S. 2017. Sustainable Coffee Production. Environmental Science - Oxford Research Encyclopedias. (En línea). Revisado el 20 de julio 2020. Disponible en: <https://oxfordre.com/environmentalscience/view/10.1093/acrefore/9780199389414.001.0001/acrefore-9780199389414-e-224>

Mejía, M. 2017. Evaluación de la Efectividad de Extractos Botánicos y aceites esenciales de la Familia Myrtaceae Frente a la Roya del Café (*Hemileia vastatrix* Berk. and Br) en la República Dominicana. Tesis. Tesis de Grado, Facultad de Ciencias Agronómicas y Veterinarias, Universidad Autónoma de Santo Domingo (UASD). Santo Domingo, DO.

OIC (Organización Internacional del Café, UK). 2014. La roya afecta 74 % de café en ES. (En línea). Revisado el 31 de octubre 2014. Disponible en: <https://www.ico.org/clr/elsalvador-22may.pdf>

Pereira, R.; Borges, L.; Gilvaine, P. Fabiano, J. Alves, E. 2012. Essential oils for rust control on coffee plants. *Ciência e Agrotecnologia*, 36(1), 16-24. (En línea). Revisado el 31 de octubre 2014. Disponible en:

<https://www.scielo.br/j/cagro/a/VkBJQm9Csy6HP75YGCJsdWF/?lang=en#:~:text=The%20oils%20of%20thyme%2C%20clove%20and%20citronella%20are%20promising%20for,control%20of%20rust%20in%20coffee.>

Rebolledo, M.; Lid, A.; Peralta, A.; Díaz, P. 2013. Control de Fumagina (*Capnodium mangifera* Cooke & Brown). Con biofungicidas en hojas y frutos de mango “manila”. *Tropical and Subtropical Agroecosystems* 16: 355 – 362. (En línea). Revisado el 04 de diciembre 2014. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/939/93929595007.pdf>

Reyes, F. 2019. Agricultura busca reducir déficit de 200 mil quintales de café fomentando su producción. (En línea). Revisado el 03 de octubre 2020. Disponible en: <https://listindiario.com/economia/2019/10/10/586245/agricultura-busca-reducir-deficit-de-200-mil-quintales-de-cafe-fomentando-su-produccion>

Rodríguez, D.; Montilla, J. 2002. Disminución de la marchitez causada por Fusarium en tomate con extracto de Citrus paradise. (En línea). *Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica)* 63: 46-50. Revisado el 04 de diciembre 2014. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/228550091_Disminucion_de_la_marchitez_causada_por_Fusarium_en_tomate_con_extracto_de_Citrus_paradisi

Rodríguez, D.; Sanabria, M. 2005. Efecto del extracto de tres plantas silvestres sobre la rizoctoniosis, la mancha sureña del maíz y los patógenos que la causan. *Interciencia* 30 (12): 739- 744. (En línea). Revisado el 04 de diciembre 2016. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/339/33911104.pdf>

Stauffer, A.; Orrego, A.; Aquino, A. 2000. Selección de extractos vegetales con efecto fungicida y/o bactericida. *Revista de Ciencia y Tecnología, Dirección de Investigaciones (UNA)* 1 (2): 29-33.

Subramani, D.; Kariyanakatte, K.; Singh, S.; Puthenveetil, K.; Subray, S. 2012. Comparative efficacy of plant products on the spore germination and disease incidence of coffee leaf rust pathogen. *Acta Biologica Indica* 1(1):69-75.

Thomidis, T.; Filotheou, A. 2016. Evaluation of five essential oils as bio-fungicides on the control of *Pilidiella granati* rot in pomegranate. (En línea). *Crop Protection*; (89) 66-71. Revisado el 04 de diciembre 2016. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0261219416301582>

Zambolim, L.; Vale, F. 2000. Perdas Na Produtividade Qualidade Do Cafeeiro Causadas Por Doenças Bióticas Abióticas. (En línea). Revisado el 04 de diciembre 2016. Disponible en: <https://www.locus.ufv.br/bitstream/123456789/27897/1/texto%20completo.pdf>

Zapata, R.; Sanabria, M.; Rodríguez, D. 2003. Reducción del desarrollo de hongos fitopatógenos con extractos de *Cardón lefaria* (*Cereus Deficiens* Otto & Diert). (En línea). Revisado el 04 de diciembre 2016. Disponible en: http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0378-18442003000500011

