

EVALUACIÓN DE LA EFICIENCIA ANTIFÚNGICA DE BIOPRODUCTOS OBTENIDOS DE OREGANO DE MONTE (*Lippia alba*) SOBRE *Fusarium equiseti* CAUSANTE DE LA PUDRICIÓN DEL ÑAME

EVALUATION OF THE EFFICIENCY BIOPRODUCTOS's ANTIFÚNGICA OBTAINED OF MONTE'S OREGANO (*Lippia alba*) ON CAUSATIVE *Fusarium equiseti* OF THE ROTTING OF THE YAM

Buelvas Caro Saúl¹, Assia Ortiz Maria¹, Pérez Novoa Eliobeth¹, Contreras Sincelejo Yucelys¹, Vitola Romero Deimer², Pérez Cordero Alexander².

Estudiantes de Ingeniería Agroindustrial, Universidad de Sucre¹. Laboratorio de Investigaciones Microbiológicas, Grupo de Investigación Bioprospección Agropecuaria², Dirección postal: Carrera 28 #5-267 Sincelejo, Sucre sauldavidbuelvas@gmail.com*, Maryassia97@hotmail.com, Eliobeth79@gmail.com, Yulys_9511@hotmail.com, fitoquimicapn@gmail.com, alexander.perez@unisucre.edu.co.

Recibido junio 30 de 2019 ; Aprobado: 20 septiembre de 2019

RESUMEN

La mayoría de las plantas producen compuestos con propiedades antimicrobianas que pueden ser empleadas en el control de enfermedades fitopatógenas que afectan a cultivos de interés económico entre ellos al del ñame. Ante la incesante búsqueda de alternativas más confiables y

benéficas para el control de plagas y enfermedades en cultivos, se ha abierto un amplio panorama de investigación en torno al uso de extractos vegetales y aceites esenciales que poseen efectos antifúngicos. En este estudio se determinó el efecto antimicótico de cinco bioproductos obtenidos de *Lippia alba* sobre *fusarium equiseti* mediante el porcentaje de inhibición del crecimiento micelial y germinación de conidias. Para esto se hizo la extracción del aceite esencial por hidrodestilación asistida por microondas y el extracto con sus fracciones se obtuvieron empleando etanol (99%) y cromatografía en columna, además, se realizó una caracterización del aceite esencial por el método GC-MS. La investigación reveló como resultados principales que el aceite esencial contiene mayoritariamente geraniol (51,3%), y citral (35,75%). los mejores porcentajes de inhibición se alcanzaron empleando aceite esencial a una concentración de 200 ppm, logrando el 100% de inhibición de UFC de conidias y a la concentración de 20.000 ppm se alcanzó el 57,4 % de inhibición de crecimiento micelial, lo que indica que el uso de estos bioproductos son una buena alternativa para reemplazar los compuestos químicos que son utilizados para el control de enfermedades fitopatógenas.

*Autor a quien debe dirigirse la correspondencia * **Buelvas Caro Saúl**.E-mail: lsauldavidbuelvas@gmail.com*

Palabras claves: aceites esenciales, extractos, *fusarium equiseti*, *Lippia alba*, Ñame.

ABSTRAC

The majority of the plants produce compounds with antimicrobial properties that can be used in the control of diseases phytopathogens that affect to cultures of economic interest between them that of the yam. Before the incessant search of the most reliable and charitable alternatives for the control of plagues and diseases in cultures, a wide panorama

of investigation has been opened concerning the use of vegetable extracts and essential oils that possess effects antifúngicos. In this study the antimycotic effect of five decided bioproductos obtained of white *Lippia* on *fusarium equiseti* by means of the percentage of inhibition of the growth micelial and germination of conidias. For this there was done the extraction of the essential oil for hidrodestilación represented by microwave and the extract by his fractions they were obtained using ethanol (99 %) and chromatography in column, in addition, realized a characterization of the essential oil for the method GC-MS. The investigation revealed as principal results that the essential oil contains for the most part geraniol (51,3 %), and citral (35,75 %). The best percentages of inhibition were reached using essential oil to a concentration of 200 ppm, achieving 100 % of UFC's inhibition of conidias and to the concentration of 20.000 ppm there was reached 57,4 % of inhibition of growth micelial, which indicates that the use of these bioproductos they are a good alternative to replace the chemical compounds that are used for the control of diseases phytopathogens.

Key words: Yam, *Lippia alba*, *fusarium equiseti*, essential oils, extracts.

INTRODUCCIÓN

El ñame (*Dioscorea* spp.) es un alimento de importancia económica para los habitantes del Oeste de África, de Asia, del Lejano Oriente, del Pacífico y del Caribe Obidiegwu *et al.*, (2009). Este es un rizoma de amplia distribución y producción en la región del Caribe colombiano, donde su producción se concentra principalmente en los

departamentos de Sucre, Córdoba y Bolívar a los cuales se les atribuye una producción para el año 2016 de 35.854 (ton), 161.023 (ton) y 184.393 (ton) respectivamente con un rendimiento del 10.40 (ton/ha), 12.54 (ton/ha) y 12,31 (ton/ha). (MINAGRICULTURA, 2016). Este cultivo, como todo cultivo, también es susceptible a

enfermedades que generan fuertes daños en la cantidad producida, rendimiento y calidad del producto final Villa-Martínez *et al.*, (2015); Herrera, (2015).

En Colombia, la producción de ñame se ha visto afectada por una infección llamada antracnosis causada por el hongo *Colletotrichum gloeosporioides* y hongos del genero *fusarium* (Vitola & Hernández, 2015).

El género *Colletotrichum gloeosporioides* se ha venido investigando desde hace tiempo por ser el principal causante de esta enfermedad, pero sin embargo no es el único hongo que genera este tipo de enfermedad fitopatogena. Investigaciones recientes llevadas a cabo por Olascuaga Vargas, 2017 y el grupo de investigación Bioprospección agropecuaria de la Universidad de Sucre logro identificar que el hongo *fusarium equiseti* es un hongo al cual se le atribuye la causa de esta enfermedad en los cultivos de ñame en el departamento de Sucre.

En una investigación realizada por Tofiño-Rivera *et al.*, (2016) muestran que el *Fusarium equiseti* es un habitante del suelo y puede infectar semillas, raíces, tubérculos y frutas. A esta especie se le atribuye como agente causal de la enfermedad en diversas especies de plantas, como el algodón (Chimbekujwo, 2000), Caupí (Rodrigues & Menezes, 2005), lentejas (Chaudhary & Kaur

, 2002), remolacha azucarera (Stojsin *et al.*, (2001), café (Contreras, *et al.*, (2015). De otra parte Herrera, *et al.*, (2015) evaluaron perfiles de PCR-RFLP en *staphylococcus aureus meticilina*-resistentes aislados a partir de queso fresco artesanal mientras Carrillo *et al.*, (2015); Rojas C., *et al.*, (2017). Realizaron la caracterización fenotípica de *metanogénicas* aisladas de un sistema DI-FAFS operado con lixiviado, agua residual y estiércol porcino. En la actualidad se están empleando tecnologías emergentes como el uso de Nanopartículas de plata en el control de microorganismos patógenos presentes en alimentos, Villamizar *et al.*, (2015).

Bajo toda esta problemática planteada han surgido nuevas alternativas amigables con el medio ambiente que son capaces de actuar como agentes controladores de enfermedades fitopatogenas, como lo son los aceites esenciales (AE) y los extractos vegetales (Pérez, *et al.*, 2017; Vitola, D., y Hernández, J. (2015); Zambrano-M., É. (2013)). Los cuales han adquirido gran importancia en los últimos años debido a sus componentes naturales y a sus propiedades bactericidas y antifungicas. Rodríguez *et al.*, (2016). En los aceites esenciales del genero *Lippia* se han realizado diversos estudios sobre el efecto antifungico en la especie de *monilia (Moniliophthora roreri)* Lozada *et al.*, (2012). *Rhizoctonia solani* Silva *et al.*, (2018).

Fusarium Oxysporum .sp.pisi (Ruano Unigarro & Vallejo Hormaza, 2014). Por ende, el objetivo principal de este estudio fue evaluar la capacidad antifúngica de cinco bioproductos obtenidos de *Lippia alba* sobre

Fusarium equiseti causante de la pudrición del tubérculo de ñame.

MATERIALES Y METODOS

Recolección y procesamiento del material

vegetal: Las plantas de *L. alba* fueron recolectadas en las instalaciones de la Universidad de Sucre Sede Puerta Roja ubicada en el Municipio de Sincelejo- Sucre- Colombia a los 9°18'55.193"N y 75°23'20.894"W. dicha planta y sus tejidos de interés fueron colectados, lavados con agua y seleccionadas para garantizar un buen estado; seguidamente se trocearon, pesaron y se sometieron al proceso de extracción.

Extracción del aceite esencial: Los aceites esenciales fueron extraídos por el método hidrodestilación asistida por microondas (MWHD), utilizando un equipo de hidrodestilación con capacidad para 2 L. Se pesaron aproximadamente 440 g de material vegetal, seleccionado y troceado, y fueron introducidos en el balón de extracción, el cual contenía 1.000 ml de agua destilada. En el proceso de arrastre con vapor empleando calentamiento el tiempo de extracción fue de 60 minutos divididos en 3 ciclos de 15

minutos cada uno con intervalos de descanso. En ambos casos, los aceites esenciales (AE) se colectaron en un recipiente tipo Dean Stark y se separaron por decantación e inmediatamente fue almacenado en viales tipo ámbar.

Obtención de los extractos: Los extractos etanólicos se obtuvieron partir de 113 g de hojas frescas de *Lippia alba* por el método de reflujo, empleando 600 ml de solvente (etanol al 99%). Los extractos previamente rotaevaporados se llevaron a una columna cromatográfica de vidrio con bulbo previamente empaquetada con gel de sílice 60 como fase estacionaria y como fase móvil en gradiente las mezclas de los solventes (F1) Ciclohexano: Tricloroetileno (6:4), (F2) Cloroformo: Acetona (8:2) y (F3) Metanol, obteniendo tres fracciones por extracto, las cuales se concentraron en rotaevaporador a temperatura reducida de 50 °C a baño de María.

Hongo: El hongo utilizado para los ensayos antimicrobianos corresponde a la cepa

identificada por el Grupo de Investigación Bioprospección Agropecuaria de la Universidad de Sucre como *Fusarium equiseti* agente causal de la pudrición del tubérculo de ñame en el departamento de Sucre.

Caracterización Química del aceite esencial de *lippia alba*

La determinación de los componentes químicos del AE de *lippia alba* se realizó mediante la técnica instrumental de Cromatografía de Gases acoplado a Espectrometría de Masa (GC-MS) desarrollada en el centro de cromatografía del grupo de investigación Bioprospección Agropecuaria de la Universidad de Sucre.

Evaluación *in vitro* de la actividad antifúngica de los bioproductos sobre el crecimiento micelial.

Para la prueba de actividad inhibitoria se siguió la metodología propuesta por Vitola y Hernández (2015), empleando el método de siembra directa con crecimiento puro de los aislados de aproximadamente 7 mm de diámetro de área de crecimiento. Se sembraron sobre la superficie del medio papa dextrosa agar (PDA). La prueba de inhibición se desarrolló de la siguiente manera: Los aislados sembrados en PDA, se les adicionó 40 µL de cada bioproducto a

diferentes concentraciones en ppm disuelto en Tween 20 al 0.85% y NaCl 0.85%. Se utilizó un control negativo con el disolvente, y un testigo absoluto sin ningún tipo de tratamiento. Los ensayos se incubaron a 30°C por 8 días en intervalos de luz y oscuridad. La actividad antifúngica se evaluó midiendo el crecimiento radial de cada aislado con las diferentes concentraciones después del día octavo.

El resultado se interpretó como porcentaje de índice antifúngico:

$$\% \text{ I.A} = \left[1 - \frac{Da}{Db} \right] * 100$$

Dónde:

Da: crecimiento de cada tratamiento

Db: crecimiento del testigo absoluto Guo *et al.*, (2007).

Evaluación *in vitro* de la actividad antifúngica de los bioproductos sobre la germinación de conidias

Para la prueba de actividad antifúngica se siguió el método de microdilución acoplado al conteo de colonias propuesto por (Malbrán, 2012). Se hicieron microdiluciones de cada bioproducto, luego se tomaron 100 µL de cada dilución y se colocaron en micropozos de una placa de lectura de

ELISA que contenían 100 µL del inóculo de conidias ajustado a una concentración de 105 conidias/mL. La placa se incubó a 28±2°C por 24 h, hasta alcanzar el tiempo de máxima germinación. Posteriormente se tomó una alícuota de 50 µL de cada tratamiento y se plaqueó en caja de Petri con PDA. Después de 48 horas de incubación bajo un ciclo de 12 h luz y 12 h oscuridad, a 28±2°C, se realizó el conteo de colonias de cada placa el cual se expresó como el Número de Unidades Formadoras de Colonias (UFC).

El porcentaje de inhibición de UFC se determinó de la siguiente manera:

$$\begin{aligned} & \% \text{ Inhibición de UFC} \\ & = \left[1 - \frac{\text{UFC tratamiento}}{\text{UFC control}} \right] * 100 \end{aligned}$$

Diseño estadístico

Se realizó un diseño experimental multifactorial con dos factores: tipo de bioproducto y concentración, para corroborar los resultados obtenidos. Para esto todos los ensayos se realizaron por triplicado, para un total de 60 corridas experimentales. Los resultados se expresaron como la media ± DE (desviación estándar). Se realizó una prueba de Shapiro-Wilk para corroborar la

normalidad de los datos, las diferencias significativas se determinaron mediante el análisis de varianza (ANOVA) y prueba de Tukey para establecer la correlación de la actividad antifúngica de los bioproductos en función a la concentración. El análisis estadístico se realizó utilizando el programa STATGRAPHICS Centurion XVI.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Composición química del aceite esencial de *Lippia Alba*.

La cromatografía de gases acoplado a espectrometría de Masa (GC-MS) mostró que el metabolito con mayor presencia en el aceite esencial de *lippia alba* fue el geraniol con un (51,3%), seguido de citral (35,75%), β -Myrcene (16%), Humuleno (12,34%) y Linalool (11,13) (Ver figura 1). Los resultados obtenidos concuerdan con los reportados por Aular *et al.*, (2016) donde muestra que hay mayor presencia de geraniol (45,30%) en el AE de *lippia alba*. Por otro lado Zambrano *et al.*, (2013) obtuvieron resultados similares con *L. alba*: geraniol (50%), neral (32%), carvona (47%) y limoneno (36%). Otro estudio, realizado por López *et al.*, (2011) encontraron seis componentes principales *L. alba*: citral, geraniol, *trans*- β -cariofileno, carvona, limoneno y biciclosesquifelandreno.

La composición química del aceite esencial de *L. alba* depende del origen geográfico de la planta, las condiciones de su cultivo, la edad y la parte de la planta empleada para la extracción, y de algunos otros factores geobotánicas Montiel *et al.*, (2007). Para dar validez a este argumento los resultados obtenidos en esta investigación difieren un poco de aquellos que muestra la

investigación realizada por Pérez Cordero *et al.*, (2017) donde dan a conocer que el mayor componente del AE de *lippia alba* obtenido de la parte foliar de la planta en el mismo lugar pero en diferentes meses del año es el citral con un (34,62%) y no el geraniol, aunque el porcentaje de citral de esta investigación es muy parecido al obtenido por Pérez Cordero *et al.*,(2017). Según Linde *et al.*, (2016) esto se puede explicar debido a los estímulos ambientales que puede redirigir la ruta de biosíntesis cambiando la composición química, producción y actividad biológica de los aceites esenciales en las plantas.

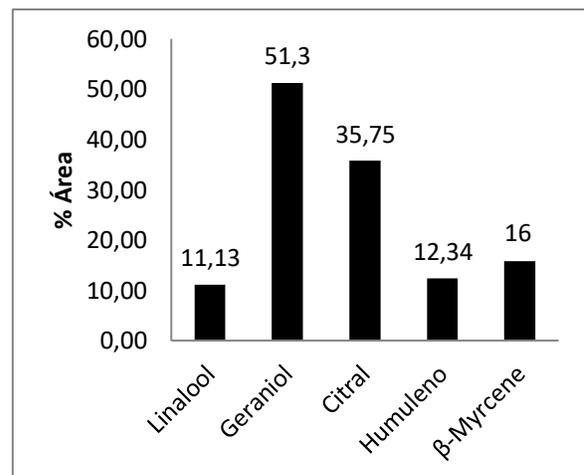


Figura 1. Composición química del aceite esencial de *lippia alba*. **Constituyentes Mayoritarios**

Evaluación de la actividad antifúngica sobre el crecimiento micelial.

El aceite esencial de *lippia alba* a la concentración de 20000 ppm mostro un 57% de inhibición micelial, el extracto (45%), F1 (45%), F2 (42%) y F3 (45%). El mayor crecimiento micelial del *fusarium equiseti* se dio en F2 a una concentración de 5000 ppm donde solo se logró un 10% de inhibición (ver figura 2). La prueba de rangos múltiples (Tukey) corrobora los resultados obtenidos.

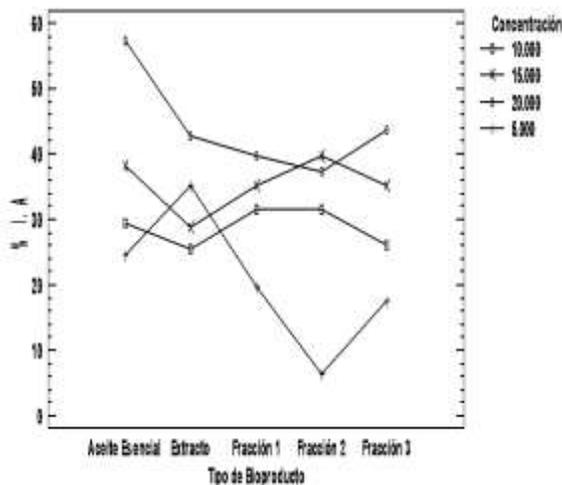


Figura 2. Porcentaje de inhibición de crecimiento radial de micelio.

La efectividad a altas concentraciones del aceite esencial de *L. alba* para inhibir el crecimiento de hongos podría atribuirse principalmente a la volatilización de los constituyentes de los aceites y/o inestabilidad en presencia de aire, la luz, el calor, la humedad y metales, lo cual modifica la atmósfera del

interior de las cajas de Petri (Vitola & Hernández, 2015). Las concentraciones de 20000 ppm y 15000 ppm evaluadas se compararon con la muestra testigo donde se evidencia el claro efecto que tiene el aceite esencial y el extracto sobre el crecimiento micelial (ver figura 3) debido a la actividad antifúngica presentada por el metabolito predominante en el AE que es el geraniol, al cual se le atribuye la causa del menor crecimiento radial del hongo *fusarium equiseti*. En la literatura se ha evidenciado el efecto que tiene el aceite esencial de *lippia alba* sobre el crecimiento micelial en distintos tipo de hongos, como es el caso reportado por Lozada *et al.*,(2012). Donde utilizó una concentración de 800 µg/ml de AE de *lippia alba* logrando una inhibición del 53.43% en el hongo *Moniliophthora roreri*. Pérez Cordero *et al.*, (2017) Uso una concentración de 10000 ppm logrando una inhibición del 97.8% en *Colletotrichum gloeosporioides*.

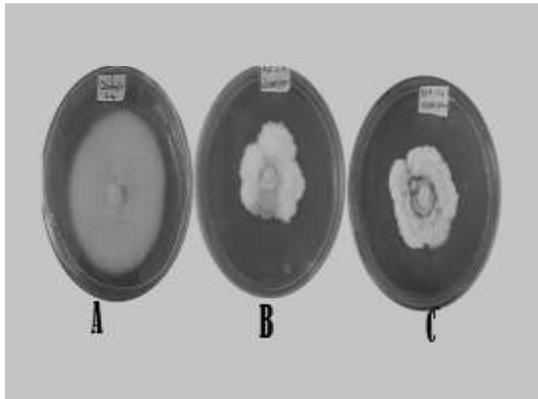


Figura 3. Inhibición micelial del *fusarium equiseti*. (A) Muestra control, (B) AE 20000 ppm, (C) Extracto 15000 ppm.

Los datos arrojados por el presente estudio se evaluaron a través de un análisis de varianza donde mostró que los valores de la prueba de crecimiento micelial con respecto a los factores tipo de bioproducto (A) y concentración (B) presentan una significancia estadística, debido a que los valores - P de (A) y (B) son menores que 0,05 lo que nos indicó que estos factores tienen un efecto estadísticamente significativo sobre el porcentaje Í.A, con un 95,0 % de nivel de confianza.

Evaluación de la actividad antifúngica sobre la germinación de conidias.

La prueba de evaluación de la actividad antifúngica sobre la germinación de conidias arrojó como resultado principal que para todas las concentraciones evaluadas (200 ppm,

1500 ppm, 3000 ppm y 4500 ppm) el aceite esencial obtuvo un 100% de inhibición de UFC siendo el mejor bioproducto. A diferencia del aceite esencial, F3 obtuvo los valores más bajos de inhibición de UFC (15% a 200 ppm, 20% a 1500 ppm, 40% a 3000 ppm y 55% a 4500 ppm). F1, F2 y el extracto obtuvieron una inhibición máxima de 98%, 95% y 97% respectivamente a una concentración de 4500 ppm (ver figura 4).

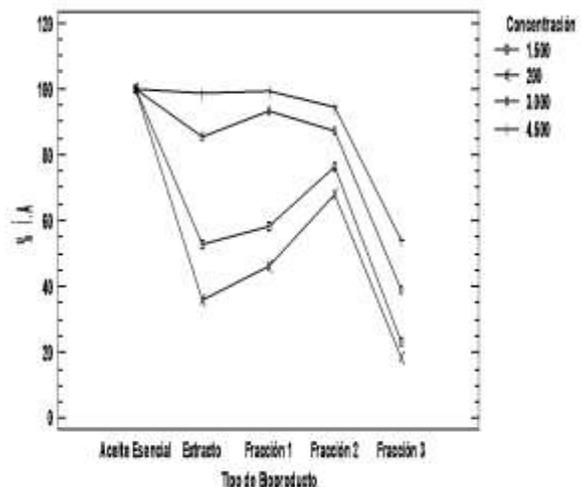


Figura 4. Porcentaje de inhibición de germinación de conidias.

El poder inhibitorio del aceite esencial de *lippia alba* se le atribuye a los metabolitos secundarios presentes. Principalmente al geraniol y citral que son los que se encuentran en mayor proporción según la cromatografía de gases realizada. El mecanismo de acción de estos componentes se debe a la inactivación o inhibición de la

síntesis de enzimas intra y extracelulares por la ruptura que ejercen sobre la membrana celular del hongo. García *et al.*, (2008).

El efecto de los diferentes metabolitos F1, F2, F3, el extracto y el aceite esencial varían significativamente según los resultados del ANOVA multifactorial (ver figura 5). Se muestra el resumen de las diferentes concentraciones utilizadas y %I.A. Los valores-P prueban la significancia estadística de cada uno de los factores. Puesto que 3 valores-P son menores que 0,05, estos factores tienen un efecto estadísticamente significativo sobre %I.A con un 95,0% de nivel de confianza. La prueba de rangos múltiples (Tukey) mostró que para el aceite

esencial en las diferentes concentraciones no presentaron crecimiento de UFC, mientras que para el extracto, y los diferentes metabolitos la concentración donde se presentó mayor crecimiento fue a 200 ppm.

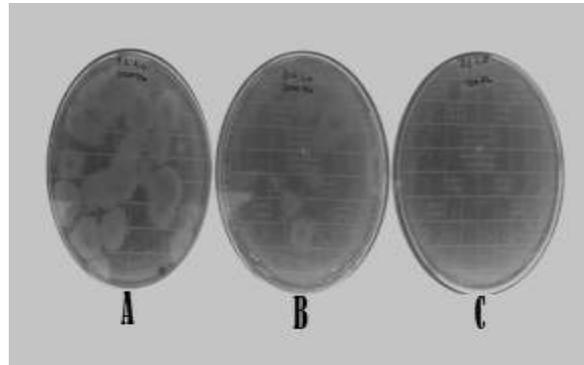


Figura 5. Inhibición micelial del *fusarium equiseti*. (A) Muestra control, (B) AE 20000 ppm, (C) Extracto 15000 ppm.

CONCLUSIONES

El aceite esencial de *lippia alba* demostró ser eficiente para ser utilizados como agente bioactivo controlador del hongo *fusarium equiseti* causante de la pudrición del ñame. Su caracterización mediante el método GC-MS arrojó como resultado principal que el geraniol y citral se encuentran en mayor proporción (51,3 %) y (35,75 %) respectivamente. Además los mejores porcentajes de inhibición de germinación de conidias se alcanzaron empleando aceite esencial a las diferentes concentraciones evaluadas (200 ppm, 1500 ppm, 3000 ppm y

4500 ppm) logrando un 100 % de actividad antifúngica para cada una de ellas. Para la inhibición de crecimiento de micelio, las mejores condiciones se lograron empleando aceite esencial a 20.000 ppm alcanzando el 57,4 % de actividad fungicida.

AGRADECIMIENTO

A la ingeniera Emíth Virginia García Delgado por el acompañamiento constante en el proceso de investigación. Y al semillero de

investigación Bioprospección Agropecuaria de la Universidad de Sucre por abrirnos las puertas.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

Atofiño-Rivera, M. Ortega-Cuadros, D. Galvis-, Pareja, H. Jiménez-Rios, L.J. Merini, M.C., y Martínez-Pabón. (2016). Effect of *Lippia alba* and *Cymbopogon citratus* Essential Oils on Biofilms of *Streptococcus mutans* and Cytotoxicity in CHO Cells. *Journal of Ethnopharmacology*.1(16): 1-16.

Aular, Y., Villamizar, M., y Pérez, V. (2016). Composición química y toxicidad aguda oral del aceite esencial de *Lippia alba* en ratones. *20* (1); *Salus*. 43-51.

Carrillo Ortiz, Jorge L., Rodríguez, Jarson A. C., Cajiao, Ángela M. P, Maldonado, Julio I. (2015). Caracterización fenotípica de metanogénicas aisladas de un sistema DI-FAFS operado con lixiviado, agua residual y estiércol porcino. *Revista @limentech, Ciencia y Tecnología Alimentaria*. ISSN 1692-7125. Volumen 13, N° 2, pp:108 -122.

Chaudhary, R. G., y Kaur , A. (2002). Wilt disease as a cause of shift from lentil cultivation in Sangod Tehsil of Kota. *Pulses Res*(15), 193-194.

Chimbekujwo, I. B. (2000). Frequency and pathogenicity of fusarium wilts (*Fusarium Solani* and *Fusarium equiseti*) of cotton (*Gossypium hirsutum*) in Adamawa in Nigeria. *48: Biol Trop*. 1-5.

Contreras R., Liliana, Cajiao Angela, Cardenas, Roberth. (2015). *Aislamiento de hongos en las diferentes etapas del beneficio de café cultivado y comercializado en toledo, norte de Santander*. *Revista @limentech, Ciencia y Tecnología Alimentaria*. ISSN 1692-7125. Volumen 13, N° 2, pp: 96 – 107.

Guo Z., R. X. (2007). The influence of the cationic of quaternized chitosan on antifungal activity. *International Journal of Food Microbiology*, 118(2): 214-217.

Herrera, Fanny A., Santos. Jesús B. (2015). *Perfiles de PCR-RFLP en staphylococcus aureus meticilina-resistentes aislados a partir de queso fresco artesanal*. *Revista @limentech, Ciencia y Tecnología*. ISSN 1692-7125. Volumen 13, N° 2, p.p. 145 - 153.

- Herrera, M. E. T. (2015). Evaluación del almidón de papa como floculante para el tratamiento de aguas residuales domésticas. *Revista @limentech, Ciencia y Tecnología*. ISSN 1692-7125. Volumen 13, N° 2, p.p: 123 -135.
- Linde, G. A., Colauto, N. B., Albertó , E., y Gazim, Z. C. (2016). Quimiotipos, Extracción, Composición y Aplicaciones del Aceite Esencial de *Lippia alba*. *Bras. Pl. Med*, 18 (1): 191-200.
- Lozada, B. S., Herrera, L. V., Perea, J. A., Stashenko, E., y Escobar, P. (2012). Efecto in vitro de aceites esenciales de tres especies de *Lippia* sobre *Moniliophthora roreri* (Cif. Y Par.) Evans et al., agente causante de la moniliasis del cacao (*Theobroma cacao* L.). (61 (2): *Acta Agrónomica*. 102 - 110.
- Malbrán, C. (2012). Metodo de determinacion de sensibilidad antimicrobiana por dilucion. 32 (2): *Clinical and laboratory Standards Institute*. 2 – 10.
- MINAGRICULTURA. Producción y Rendimiento del Cultivo de Ñame. (2016). Disponible en: <http://www.agronet.gov.co/Paginas/default.aspx>
- Montiel, J., Mesa Arango, A. C., Durán, C., Bueno, J. G., Betancur Galvis, L., y Stashenko, E. (2007). Evaluación de la actividad anti-candida y anti-aspergillus de aceites esenciales de *Lippia alba* (miller) n.e brown quimiotipo carvona-limoneno y su asociación con sus componentes mayoritarios. *Scientia et Technica*, 243-246.
- Obidiegwu, J.E.; Asiedu, R.; Eneobong, E. E.; Muon.. (2009). Genetic characterization of some water yam (*Dioscorea alata* L.) accessions in West Africa with simple sequence repeats. *J. Food, Agr. & Environm*, 634-638.
- Olascuaga Vargas, D. (2017). Evaluación de la actividad antifúngica del aceite esencial de *Cymbopogon citratus* contra *Fusarium* sp. en cultivo de ñame en Sucre. *Universidad de Córdoba*.
- Pérez Cordero, A., Chamorro Anaya, L., y Vitola Romero, D. (2017). Caracterización química y evaluación de la actividad antifúngica del aceite esencial foliar de *Lippia alba* contra *Colletotrichum gloeosporioides*. 24 (2): *Revista peruana de biología*, 211-216.
- Pérez, A., Vitola, D.; Villarreal, J.; Noya Barreto, M.; Pérez Pérez Y.; Ramírez Sevilla, A.; Rangel Pérez, M. (2017).

- Actividad antimicrobiana de aceites esenciales de naranja dulce (*Citrus sinensis*) y limón criollo (*Citrus aurantifolia*) como control en el añublo bacterial de la panícula del arroz. *Revista @limentech, Ciencia y Tecnología Alimentaria*. ISSN:1692-7125. Volumen 15 N°2. Pp. 28 – 44
- Rodrigues, A., y Menezes, M. (2005). Identification and pathogenic characterization of endophytic *Fusarium* species from cowpea seeds. 159: *Mycopathologia*. 79-85.
- Rodríguez Zaragoza, S., y Salazar Rueda, I. J. (2016). Efecto antimicrobiano de aceites esenciales en *Staphylococcus aureus* y *Listeria innocua*. *Colegio Indoamericano, S. C.*, 13.
- Rojas C., Fajardo M, Carrascal. (2017). Mapeo microbiológico de *salmonella spp.* En plantas de desposte y comercialización. *Revista @limentech, Ciencia y Tecnología Alimentaria*. ISSN:1692-7125. Volumen 15 N°2. Pp: 53 -61.
- Ruano Unigarro, E. A., y Vallejo Hormaza, A. J. (2014). Formulación de un biofungicida a partir de una emulsión con aceites esenciales de oregano silvestre (*Lippia organoides h.b.k*) frente al fitopatógeno *Fusarium oxysporum f. Sp.* Pisi causante de marchitez vascular de arveja (*Pisum Sativum L.*). Universidad de Nariño. Facultad de Ingeniería Agroindustrial, Programa de Ingeniería Agroindustrial, 1-92.
- Silva, V. C.-C. (2018). Effect of essential oils from *Lippia sidoides* and *Lippia gracilis* on growth inhibition of *Rhizoctonia solani*. 1198 (6): *Acta Horticulturae*. 31-34.
- Stojšin, V., Balaz, F., Bagi, F., y Keljacki, I. (2001). Pathogenicity of *Fusarium spp.* isolates from sugar beet root. *Zastita Bilja*, 241-249.
- Villa-Martínez, A., Pérez-Leal, R., Morales-Morale, H., Basurto-Sotelo, M., Soto-Parra, J. M., y Martínez-Escudero, E. (2015). Situación actual en el control de *Fusarium spp.* y evaluación de la actividad antifúngica de extractos vegetales. *Acta Agronómica*, 194-205.
- Villamizar R., Parra, M. L. M. (2015). Uso de Nanopartículas de plata en el control de microorganismos patógenos presentes en alimentos. *Revista @limentech, Ciencia y Tecnología Alimentaria*. ISSN 1692-7125. Volumen 13 N° 1, pp: 54 – 59.
- Vitola, D., y Hernández, J. (2015). Evaluación in vitro de la eficiencia de aceites esenciales de cuatro plantas

aromáticas contra *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. y Sacc. causante de la antracnosis en cultivos de ñame en el departamento de Sucre. Universidad de Sucre. Pp.1 - 89.

Zambrano-M., É. (2013). Efecto de la fertilización nitrogenada en el rendimiento y la composición de los aceites esenciales de especies y accesiones de *Lippia*. *Acta Agronómica*, 62(2), 129-135.