



Actividad antifúngica *in vitro* de diferentes concentraciones de *Syzygium aromaticum* “clavo de olor” contra *Fusarium oxysporum*

In vitro antifungal activity of different variations of *Syzygium aromaticum* "clavo de olor" against *Fusarium oxysporum*

Victor John Acedo-Zegarra^{1*} , Diego Fernando Arana-Bardales¹, Alberto Enrique Condo-Montano¹

RESUMEN

Se determinó la actividad antifúngica de *Syzygium aromaticum* “clavo de olor” a concentraciones de 1%, 3% y 5% contra el hongo fitopatógeno *Fusarium oxysporum*. Para ello se realizaron cultivos *in vitro* de dicho hongo, estableciendo dos placas Petri control y tres repeticiones para cada una de las concentraciones: 1%, 3% y 5% de *Syzygium aromaticum*. El crecimiento radial de las colonias se evaluó durante cinco días, midiendo el radio de las mismas con un vernier. Como resultados se obtuvo que el crecimiento radial del micelio de *F. oxysporum* para los controles, así como para las concentraciones de 1% y 3% de *S. aromaticum* son de 2.65 cm, 2.5 cm y 1.1 cm, respectivamente, considerándose los datos más altos de crecimiento micelial en estas placas. Además, para la concentración de 5% de *S. aromaticum*, no se observa crecimiento micelial del hongo. Así mismo, en relación a las concentraciones de 1% y 3% de *S. aromaticum*, el porcentaje de inhibición en relación al crecimiento micelial de *F. oxysporum* es de 11.88% y 65.45%, respectivamente, y para la concentración de 5% de extracto de *Syzygium aromaticum* los resultados obtenidos muestran notablemente una actividad antifúngica total de 100% frente a *Fusarium oxysporum*.

Palabras claves: extracto, actividad antifúngica, hongo fitopatógeno, clavo de olor (*Syzygium aromaticum*).

ABSTRACT

The antifungal activity of *Syzygium aromaticum* "clove" was determined at concentrations of 1%, 3% and 5% against the phytopathogenic fungus *Fusarium oxysporum*. For this, *in vitro* cultures of said fungus were carried out, establishing two control Petri dishes and three repetitions for each of the concentrations: 1%, 3% and 5% of *Syzygium aromaticum*. The radial growth of the colonies was evaluated for five days, measuring their radius with a vernier. As a result, it was obtained that the radial growth of the mycelium of *F. oxysporum* for the controls as well as for the concentrations of 1% and 3% of *S. aromaticum* are 2.65 cm, 2.5 cm and 1.1 cm, respectively, considering the highest data of mycelial growth in these plates. In addition, for the 5% concentration of *S. aromaticum*, no fungal mycelial growth is observed. Likewise, in relation to the concentrations of 1% and 3% of *S. aromaticum*, the percentage of inhibition in relation to the mycelial growth of *F. oxysporum* is 11.88% and 65.45%, respectively, and for the concentration of 5% of *Syzygium aromaticum* extract the results obtained remarkably show a total antifungal activity of 100% against *Fusarium oxysporum*.

Keywords: extract, antifungal activity, plant pathogenic fungus, clove (*Syzygium aromaticum*).

¹Universidad Nacional de Trujillo, Trujillo, Perú

* Autor de Correspondencia, e-mail: johnacedo209@gmail.com

I. INTRODUCCIÓN

La población mundial hoy en día está en incremento y con ello, ha aumentado la necesidad por contar con una mayor producción de alimentos, con la finalidad de satisfacer esta necesidad en la población. Debido a ello, el hombre y su interés por obtener grandes producciones agrícolas, además de su protección, ha optado por emplear indiscriminadamente, y muchas veces inconscientemente, los plaguicidas químicos (Palacios *et al.*, 2011).

Actualmente, los sistemas agrícolas en búsqueda de cumplir con esta necesidad de obtener una gran producción y de calidad, también se han visto afectados por el uso de agroquímicos para controlar el ataque de malezas, plagas y enfermedades que atacan a los diferentes cultivos y ello ha generado diversos problemas no sólo sobre la salud humana sino también a nivel ambiental (Gan y Wickings, 2017).

Sin embargo, este tipo de agricultura cada día es más insostenible e irresponsable debido al empleo de prácticas y manejos con enfoques buscando la sostenibilidad de la producción, debido a las exigencias que plantean los mercados diferenciados, los cuales a través de sus organismos reguladores hacen cumplir estándares de producción específicos. Además, para el cumplimiento de estas exigencias, las prácticas empleadas se están basando en el uso de productos químicos lo cual está creando resistencia por parte de los microorganismos a los plaguicidas; por ello, las industrias están buscando diferentes alternativas de manejo responsable (Gavrilescu y Chisti, 2005; Shahid *et al.*, 2017).

Por ejemplo, cultivos de hortalizas y frutales están siendo tratados contra enfermedades como alternaria (*Alternaria solani*), fusarium (*Fusarium oxysporum*) y antracnosis (*Colletotrichum gloeosporioides*), principalmente con el uso de plaguicidas de síntesis química. Además de esta práctica realizada en campo, algunos productores también aplican productos químicos a sus productos post cosecha, con la finalidad de mantenerlos sin presencia de patógenos para la venta, por lo que estos productos no logran degradarse, provocando

la reducción de la calidad biológica en los productos a comercializar (Ramirez *et al.*, 2016).

Sin embargo, en los últimos años el uso de estos productos químicos o fungicidas de composición química, ha aumentado la preocupación no sólo del consumidor sino también del productor. Esto ha generado que el uso de estos productos sea cada vez más restrictivo debido a las consecuencias que provoca tanto en la salud, como efectos carcinógenos, problemas de toxicidad residual, como también en la contaminación ambiental provocando la disminución de biodiversidad, contaminación del suelo y aparición de resistencia microbiana (Mesa *et al.*, 2019).

Debido a ello, en estos últimos años, se han buscado alternativas de producción de calidad y principalmente sostenible, en donde se obtenga una producción de libre de compuestos químicos que dañen a las personas o al medio ambiente, encontrando como una gran opción el uso de controladores biológicos y compuestos orgánicos. Esto se debe a que las especies vegetales tienen compuestos que cumplen funciones biológicas y químicas de defensa, por lo que gran variedad de estos elementos o compuestos pueden tener actividad biológica sobre los microorganismos, dentro de ellos los hongos (Mazid *et al.*, 2011; Saravanakumar *et al.*, 2015).

Los elementos y compuestos que proporcionan a las plantas propiedades antifúngicas para enfrentar diferentes patógenos, pueden actuar de individualmente, así como también mediante mezclas a diferentes concentraciones y/o proporciones; así mismo, existen diferentes métodos para la obtención o extracción de estos compuestos los cuales buscan salvaguardar las propiedades extraídas de la mejor manera posible (Villa-Martínez *et al.*, 2015).

Las especies vegetales y los extractos obtenidos de ellos, en los últimos años, han sido de gran interés científico para la búsqueda de nuevas investigaciones en relación a su actividad antibacteriana y antifúngica y, además, de nuevas propiedades de las mismas (Briçño *et al.*, 2011). Además, estas propiedades con las que cuentan las especies vegetales es gracias a sus

extractos y aceites vegetales presentes, ya que estos contienen grupos químicos y componentes activos que actúan sobre la resistencia, repelencia y control total de microorganismos e insectos, tales como terpenos, fenoles alcaloides, ácidos orgánicos, péptidos, ácidos grasos polinsaturados y del grupo Omega 3, Piperina, Capsicina, D - Limonene, diatomos, cafeína, nicotina, entre otros (Corrales *et al.*, 2018).

Por ello, surge la alternativa de usar los extractos obtenidos de especies vegetales para el control de plagas y enfermedades, con la finalidad de lograr una agricultura sostenible, debido a la elevada efectividad de acción, bajo costo y no provocar contaminación al ambiente (Rodríguez *et al.*, 2000). Dentro de estas especies vegetales que cuentan con estas características tenemos a *Syzygium aromaticum* "clavo de olor", a la cual se le atribuyen propiedades antifúngicas, antibacterianas y otros.

Syzygium aromaticum es una especie de fácil localización y es de gran comercialización debido a sus propiedades antifúngicas, antisépticas, antivirales, anestésicas analgésicas, bactericidas, atribuyendo estas propiedades al componente eugenol, quien también es el responsable de la mayor parte del aroma característico de la especie, comprendiendo entre el 72-90% del aceite esencial extraído principalmente de los botones (Cueva, 2017).

Por otro lado, entre los hongos y oomicetos fitopatógenos más significativos tanto en pre como en poscosecha de los distintos cultivos se encuentran algunos géneros como *Botrytis*, *Puccinia*, *Rhizoctonia*, *Cladosporium*, *Fusarium*, *Colletotrichum*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Alternaria*, *Mycosphaerella*, *Ceratocystis*, *Sphaerotheca*, *Phytophthora*, entre otros (Hosni *et al.*, 2013; Castaño-Zapata, 2015). Dentro de uno de este grupo de hongos fitopatógenos, el más conocido es el género *Fusarium*, debido a su elevada capacidad fitopatógena que afecta a una gran variedad de cultivos (Forero-Reyes *et al.*, 2018).

El género *Fusarium* pertenecen a un grupo de hongos ascomicetos filamentosos y cosmopolitas, los cuales presentan un micelio bien desarrollado, septado y

conidióforos característicos, aunque algunas especies tienen un talo unicelular; además, los hongos de este género son considerados principalmente como hongos de campo, debido a que actúan sobre diversos cultivos y les causa una diversidad de enfermedades (Sumalan *et al.*, 2013). Por ello, las especies de *Fusarium* son ampliamente conocidos alrededor del mundo, y se han convertido en un problema serio ya que producen metabolitos tóxicos que afectan a la biodiversidad, debido a la gran cantidad de enfermedades que afectan a los cultivos de todo el mundo, generando además importantes pérdidas económicas para la población (Villa-Martínez *et al.*, 2015).

En el presente trabajo se determinó la actividad antifúngica in vitro de diferentes concentraciones de *Syzygium aromaticum* "clavo de olor" contra *Fusarium oxysporum*, para la inhibición de este hongo, considerado como uno de los principales hongos fitopatógenos que ataca a diversos cultivos.

II. MATERIAL Y MÉTODOS

Material Biológico

La colecta de los botones florales de *S. aromaticum* "clavo de olor", fueron obtenidos en el mercado Mayorista de la ciudad de Trujillo. Posteriormente las muestras recolectadas fueron trasladadas al Laboratorio de Fitopatología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de Trujillo, las cuales fueron seleccionadas desechándose las que presentaron daños mecánicos.

Las cepas utilizadas del hongo fitopatógeno, *F. oxysporum*, fueron proporcionadas por la Cátedra de Fitopatología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la misma universidad.

Obtención del extracto

Los botones florales de *S. aromaticum* fueron molidos en un "molino casero".

Luego, se pesaron 25 g de cada muestra adicionándole 100 mL de disolvente, agua destilada, en un matraz para obtener una solución al 25%, y se dejó reposar durante 48 h a temperatura ambiente. Posteriormente se filtró el extracto con papel filtro Whatman N° 1.

A partir de esta concentración (25%) se realizaron diluciones al 1, 3 y 5% con vistas a determinar la concentración de *S. sativum* "clavo de olor", a la cual el crecimiento micelial del hongo *F. oxysporum* se inhibe.

Se realizaron pruebas in vitro con medio de cultivo artificial papa dextrosa agar (PDA), adicionando los mL correspondientes de las diluciones de *S. sativum* (Tabla 1), con tres repeticiones para cada concentración.

Tabla 1. Volúmenes correspondientes de diluciones de *Syzygium aromaticum* "clavo de olor" para la evaluación antifúngica contra *Fusarium oxysporum*.

%	Volumen inicial	C1	Volumen dilución
1 %	100 mL	25%	4 mL
3 %	100 mL	25%	12 mL
5 %	100 mL	25%	20 mL

Evaluación de la actividad antifúngica

Se procedió a realizar la esterilización de las concentraciones de *S. aromaticum*, los cuales fueron esterilizados a 121°C. Luego, el medio de cultivo PDA conteniendo las concentraciones de *S. aromaticum* fueron vaciados en placas de petri (60 x 15 mm) para su solidificación. Se usaron tres repeticiones para cada una de las concentraciones. Las placas de Petri control contenían únicamente PDA.

Posteriormente, se realizó la siembra de *F. oxysporum* en cada una de las placas de estudio. Con un asa bacteriológica, esterilizada, se tomó una cantidad de inóculo del hongo y se introdujo en el centro del medio de cultivo que contiene la placa petri. Las placas fueron incubadas en la oscuridad por un día a 22°C y el crecimiento radial del micelio se midió en cm con un vernier durante 5 días. Todos los bioensayos fueron llevados a cabo por triplicado.

Análisis de datos

Al finalizar la evaluación, se realizó el análisis de datos calculando el porcentaje de inhibición. El efecto inhibitorio de los extractos se determinó como porcentaje de inhibición del crecimiento radial del micelio de las especies de los hongos con respecto al testigo PDA.

Para ello, este efecto inhibitorio del crecimiento micelial se calculó de la siguiente manera: % inhibición =

[(crecimiento micelial del testigo – crecimiento micelial del tratamiento) / crecimiento micelial del testigo] x 100.

Los resultados obtenidos se evaluaron estadísticamente, mediante un Análisis de Varianza (ANOVA) para comparar las diferentes concentraciones de *S. aromaticum* "clavo de olor", con la finalidad de determinar qué concentración es el que tiene mayor actividad antifúngica frente al hongo fitopatógeno *F. oxysporum*.

III. RESULTADOS

En la tabla 2 se presentan los resultados obtenidos del crecimiento radial del micelio del hongo fitopatógeno *F. oxysporum* expuestos a concentraciones de *S. aromaticum* "clavo de olor", evaluados durante cinco días. En esta tabla se observa que el crecimiento radial del micelio (cm) de *F. oxysporum* en los controles va en aumento conforme pasan los días. Así mismo, para las concentraciones de 1% y 3% de *S. aromaticum*, el crecimiento de *F. oxysporum* también aumenta conforme pasan los días. Sin embargo, este hongo no presenta crecimiento micelial a una concentración de 5% de *S. aromaticum*.

La figura 1 representa el crecimiento micelial a los cinco días de sembrado del hongo *F. oxysporum*, para cada una de las concentraciones empleadas de *S. aromaticum* (1%, 3% y 5%) con sus respectivas repeticiones y los controles empleados.

La tabla 3 y la tabla 4 presentan el porcentaje de inhibición de *S. aromaticum*, a las concentraciones de 1%, 3% y 5% frente al hongo fitopatógeno *F. oxysporum* y el promedio de estos porcentajes de *S. aromaticum* frente a *F. oxysporum*, respectivamente. Se puede observar claramente que con una concentración de 5% de *S. aromaticum* se obtiene una inhibición total del 100% en relación al crecimiento micelial del hongo fitopatógeno *F. oxysporum*, lo cual indica una propiedad antifúngica muy efectiva.

Tabla 2. Datos del crecimiento radial del micelio (cm) de *F. oxysporum* a concentraciones de 1%, 3% y 5% de *S. aromaticum*, evaluados durante cinco días

		Concentraciones de <i>s. Aromaticum</i>										
		Control I	Control II	1%			3%			5%		
				I	II	III	I	II	III	I	II	III
Crecimiento radial de <i>fusarium oxysporum</i> (cm)	Día 1	0,50	0,55	0,35	0,50	0,50	0,20	0,15	0,075	0	0	0
	Día 2	1,00	1,05	0,85	0,90	0,95	0,30	0,20	0,20	0	0	0
	Día 3	1,05	1,10	1,20	1,20	1,30	0,40	0,35	0,45	0	0	0
	Día 4	1,55	1,95	1,40	1,45	1,55	0,80	0,75	0,90	0	0	0
	Día 5	2,65	2,80	2,10	2,50	2,50	1,10	1,00	1,10	0	0	0

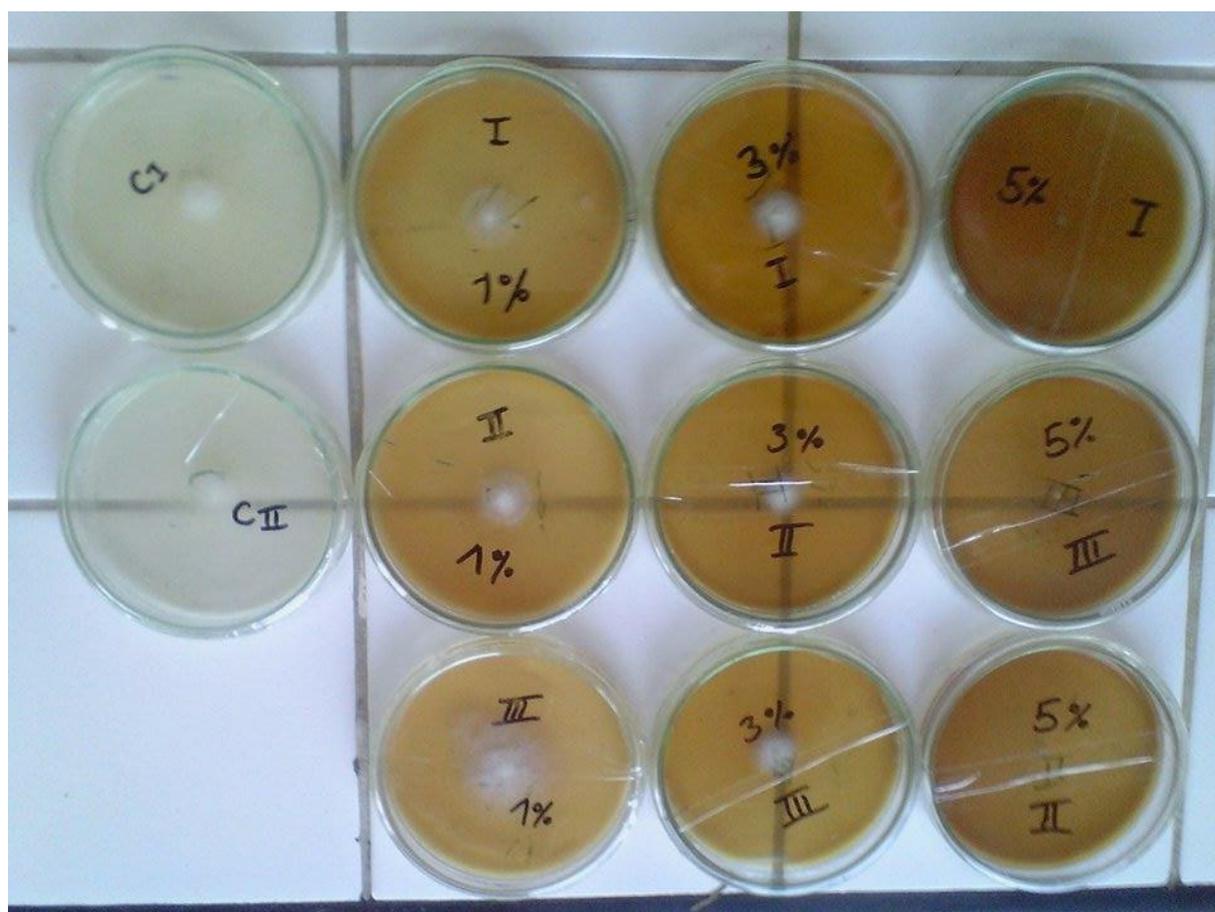


Figura 1. Crecimiento micelial de *F. oxysporum* a los cinco días de sembrado, para cada concentración de *S. aromaticum*, con sus respectivas repeticiones.

Tabla 3. Porcentaje de inhibición de *S. aromaticum* "clavo de olor" a las concentraciones de 1%, 3% y 5% frente al hongo fitopatógeno *F. oxysporum*

		Porcentaje de inhibición								
		1%			3%			5%		
		I	II	III	I	II	III	I	II	III
Día 1		33,33	4,76	4,76	61,9	71,43	85,71	100	100	100
Día 2		17,07	12,20	7,32	70,73	80,49	80,49	100	100	100
Día 3		4,19	4,19	2,33	62,79	67,44	58,14	100	100	100
Día 4		20,00	17,10	11,4	54,30	57,10	48,60	100	100	100
Día 5		22,94	8,26	8,26	59,63	63,30	59,63	100	100	100

Tabla 4. Promedio de porcentaje de inhibición de *S. aromaticum* "clavo de olor" a las concentraciones para cada concentración (1%, 3% y 5%) frente al Hongo Fitopatógeno *Fusarium oxysporum*

	Porcentaje de inhibición		
	1%	3%	5%
Día 1	14,286	73,016	100
Día 2	12,195	77,236	100
Día 3	3,566	62,791	100
Día 4	16,190	53,333	100
Día 5	13,150	60,856	100
Promedio % inhibición por concentración	11,877	65,446	100

Estos resultados nos permitieron realizar un análisis ANOVA en relación a los niveles de concentración empleados para el estudio, en donde se puede demostrar que existe suficiente base estadística para afirmar que, para las tres concentraciones de *S. aromaticum*

"clavo de olor", sí existen diferencias significativas respecto a la actividad antifúngica de cada una de ellas frente al hongo fitopatógeno *F. oxysporum*, con un porcentaje de error de 5% (Tabla 5).

Tabla 5. Análisis de Varianza (ANOVA) para el carácter: "Concentración" de clavo de olor, *Syzygium aromaticum*.

*Origen de las variaciones	G.L.	S.C.	C.M.	Fc	Ft
Entre grupos	2	19715,30	9857,65	253,66	3,89
Dentro de los grupos	12	466,34	38,86		
Total	14	20181,64			

G.L. = Grados de libertad; S.C. = Suma de cuadrados; C.M. = Cuadrados medios; Fc = Estadístico F calculado; Ft = Estadístico F teórico

IV. DISCUSIÓN

El crecimiento radial del micelio de *F. oxysporum* para los controles, así como para las concentraciones de 1% y 3% de *S. aromaticum* son de 2.65 cm, 2.5 cm y 1.1 cm, respectivamente, considerándose los datos más altos de crecimiento micelial en estas placas. Además, para la concentración de 5% de *S. aromaticum*, no se observa crecimiento micelial del hongo. Así mismo, en relación a las concentraciones de 1% y 3% de *S. aromaticum*, el porcentaje de inhibición en relación al crecimiento micelial de *F. oxysporum* es de 11.88% y 65.45% respectivamente.

La evaluación de las concentraciones de 1% y 3% presentaron un porcentaje de inhibición menor frente al crecimiento micelial del hongo fitopatógeno *Fusarium oxysporum*. Además, se puede observar claramente que con una concentración de 5% de *S. aromaticum* se obtiene una inhibición total del 100% en relación al crecimiento micelial del hongo fitopatógeno *F. oxysporum*, lo cual indica una propiedad antifúngica muy efectiva.

Los resultados de nuestra investigación coinciden con diversos estudios realizados empleando *S. aromati-*

cum frente al crecimiento del hongo *Fusarium*. Por ejemplo, Pawar y Thaker (2007) realizaron estudios empleando aceites esenciales para el control de *Fusarium oxysporum* f. sp. cicer, entre ellos los más eficaces fueron de canela (*Cinnamomum zeylanicum*), casia (*Cinnamomum cassia*), clavo de olor (*Syzygium aromaticum*) y hierba de limón (*Cymbopogon citratus*), pues tuvieron un alto efecto inhibitorio.

Así mismo, Velluti *et al.*, 2004 en sus estudios evaluaron el crecimiento de especies de hongos, como *Fusarium verticillioides*, *F. proliferatum* y *F. graminearum*, con extractos vegetales y/o aceites esenciales de canela, clavo de olor, orégano, hierba de limón y palmarosa, en donde presentaron inhibición en las especies de *Fusarium*.

Cardiet *et al.*, 2011, enfrentó otra especie de este hongo, *Fusarium graminearum*, frente a extractos de *Syzygium aromaticum* "clavo de olor", donde también se observaron resultados de inhibición en el crecimiento micelial del hongo en mención.

Estudios de Rueda *et al.* (2013), realizaron estudios de diferentes extractos, dentro de los cuales emplearon el extracto acuoso de *Syzygium aromaticum* "clavo de

olor". En esta evaluación, el extracto presentó actividad biológica para diferentes especies de hongos empleados en su estudio, dentro de los cuales estaba incluido *Fusarium oxysporum*. Además, estos resultados fueron relacionados a otros en donde también demostraron que el aceite esencial de clavo posee actividad antifúngica in vitro, afectando especies que se desarrollan frecuentemente en los alimentos tales como *Paecilomyces*, *Penicillium spp.*, *Rhizopus spp.*, *Rhizomucor spp.*, inclusive algunas especies de *Aspergillus* (Joseph and Sujatha, 2011) y que inhibe perceptiblemente el crecimiento de *Aspergillus flavus*, *A. niger*, *Fusarium oxysporum*, *F. chrysogenum*, *Penicillium spp.* (Kritzinger et al., 2002).

V. CONCLUSIONES

Syzygium aromaticum "clavo de olor", presenta una actividad antifúngica contra el hongo fitopatógeno *Fusarium oxysporum* a una concentración de 5%, presentando propiedades antifúngicas efectivas, con un porcentaje de inhibición de 100%, esto debido al efecto inhibitorio que posee esta especie.

Teniendo en cuenta ello, la investigación realizada servirá como una propuesta para proponer investigaciones aplicativas, con la finalidad de determinar el efecto de estos componentes sobre frutos en estudios *in situ*.

VI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Briceño, G., J. García, A. Maselli y L.G. Rosales. 2011. "Effect of ethanolic extracts of rue and neem on the control of phytopathogenic bacteria of the genus *Erwinia*." *Agronomía Tropical* 61 (2): 141-148.

Cardiet, G., B. Fuzeau, C. Barreau, y F. Fleurat. 2012. "Contact and fumigant toxicity of some essential oil constituents against a grain insect pest *Sitophilus oryzae* and two fungi, *Aspergillus westerdijkiae* and *Fusarium graminearum*." *Journal of Pest Science* 85 (3): 351-358.

Castaño-Zapata, J. 2015. *Principios básicos de hongos fitopatógenos*. Manizales (Colombia): Universidad de Caldas.

Corrales, C. J., A. A. Rodríguez, M. K. Villalobos, V. S. Hernández, y R. O. Alvarado. 2018. "Evaluación de tres extractos naturales contra *Bemisia tabaco* en el cultivo del melón, Puntarenas, Costa Rica." *Agronomía Costarricense* 42 (2): 93-106.

Cueva, B., J.A. 2017. *Actividad antifúngica in vitro del aceite esencial y extracto alcohólico del Syzygium aromaticum "clavo de olor" sobre Candida albicans CEPA ATCC 10231*. Trabajo de Grado. Universidad Nacional de Chimborazo. Riobamba (Ecuador).

Forero-Reyes, C. M., A. M. Alvarado, A. M. Ceballos, L. C. González, M. Y. Linares-Linares, R. Castañeda, A. Pulido, M. Góngora, J. A Cortés-Vecino, y M. X. Rodríguez-Bocanegra. 2018. "Evaluación de la capacidad patogénica de *Fusarium spp.* en modelos vegetal y murino." *Revista Argentina de Microbiología*, 50 (1): 90-96.

Gan, H. y K. Wickings. 2017. "Soil ecological responses to pest management in golf turf vary with management intensity, pesticide identity, and application program." *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 246: 66-77.

Gavrilescu, M. y Y. Chisti. 2005. "Biotechnology-a sustainable alternative for chemical industry." *Biotechnology Advances* 23 (7): 471-499.

Hosni, K., I. Hassen, H. Sebei, y H. Casabianca. 2013. "Secondary metabolites from *Chrysanthemum coronarium* (Garland) flowerheads: Chemical composition and biological activities." *Industria Crops and Products* 44: 263-271.

Joseph, B., y S. Sujatha. 2011. "Bioactive compounds and its autochthonous microbial activities of extract and clove oil (*Syzygium aromaticum*) on some food borne pathogens." *Asian Journal of Biological Sciences* 4: 35-43.

Kritzinger, Q., T. Aveling, y W. Marasas. 2002. "Effect

- of essential plant oils on storage fungi, germination and emergence of cowpea seeds." *Journal of Seed Science and Technology* 30: 609-619.
- Mesa, V. A. M., P. A. Marín, O. Ocampo, J. Calle, y Z. Monsalve. 2019. "Fungicidas a partir de extractos vegetales: una alternativa en el manejo integrado de hongos fitopatógenos." *Revista de Investigaciones Agropecuarias* 45 (1).
- Mazid, S., J. Kalita, y R. Rajkhowa. 2011. "A review on the use of biopesticides in insect pest management." *International Journal of Science and Advanced Technology* 1 (7): 169-178.
- Palacios, J. R., C. R. Romeu, O. Ramírez, L. Leliebre, y M. Ortiz. 2011. "Actividad antifúngica in vitro de extractos de *Navisporus floccosus* y *Ganoderma* sp. contra hongos fitopatógenos." *Fitosanidad* 15 (2): 123-128.
- Pawar, V. C. y V. S. Thaker. 2007. "Evaluation of the anti-*Fusarium oxysporum* f. sp. cicer and anti-*Alternaria porri* effects of some essential oils." *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 23 (8): 1099-1106.
- Ramírez, S. I., B. O. López, Z. S. Espinosa, y V. Wong. 2016. "Actividad antifúngica de hidrodestilados y aceites sobre *Alternaria solani*, *Fusarium oxysporum* y *Colletotrichum gloeosporioides*." *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 7 (8): 1879-1891.
- Rodríguez A. T., D. Morales, y M. Ramírez. 2000. "Efecto de extractos vegetales sobre el crecimiento in vitro de hongos fitopatógenos." *Cultivos Tropicales* 21 (2): 79-82.
- Rueda de León, I. C., V. Colorado, M. Salas, C. Muñoz, O. Hernández. 2013. "Actividad Antifúngica in vitro de extractos acuosos de especias contra *Fusarium oxysporum*, *Alternaria alternata*, *Geotrichum candidum*, *Trichoderma* spp., *Penicillium digitatum* y *Aspergillus niger*." *Revista Mexicana de Fitopatología* 31 (2): 105-112.
- Saravanakumar, D., L. Karthiba, R. Ramjagathesh, K. Prabakar, y T. Raguchander. 2015. "Characterization of bioactive compounds from botanicals for the management of plant diseases." En *Sustainable Crop Disease Management Using Natural Products*. Ganesan, S., K. Vadivel, y J. Jayaraman (eds). Boston (EE.UU.): CAB Internacional.
- Shahid, M., A. Zaidi, M. S. Khan, A. Rizvi, S. Saif, y B. Ahmed. 2017. "Recent advances in Management Strategies of Vegetable Diseases." En *Microbial Strategies for Vegetable Production*. Zaidi, A y M. S. Khan (eds). Nueva York (EE. UU.): Springer International Publishing. DOI 10.1007/978-3-319-54401-4_9.
- Sumalan, R. M., E. Alexa, y M. A. Poiana. 2013. "Assessment of inhibitory potential of essential oils on natural mycoflora and *Fusarium* mycotoxins production in wheat." *Chemistry Central Journal* 7(1): 1-12.
- Velluti A., S. Marín, P. Gonzalez, A. Ramos, y V. Sanchis. 2004. "Initial screening for inhibitory activity of essential oils on growth of *Fusarium verticillioides*, *F. proliferatum* and *F. graminearum* on maize-based agar media." *Food microbiology* 21 (6): 649-656.
- Villa A., R. Pérez, H. Morales, M. Basurto, J. Soto, y E. Martínez. 2015. "Situación actual en el control de *Fusarium* spp. y evaluación de la actividad antifúngica de extractos vegetales." *Acta Agronómica* 64 (2): 194-205.