EVALUACIÓN *in vitro* DE LA EFICIENCIA DE ACEITES ESENCIALES DE CUATRO PLANTAS AROMÁTICAS CONTRA *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. & Sacc. CAUSANTE DE LA ANTRACNOSIS EN CULTIVOS DE ÑAME EN EL DEPARTAMENTO DE SUCRE

DEIMER CALIXTO VITOLA ROMERO
JESÚS MARÍA HERNÁNDEZ GÓMEZ

UNIVERSIDAD DE SUCRE
FACULTAD DE EDUCACIÓN Y CIENCIAS
PROGRAMA DE BIOLOGÍA
SINCELEJO
2015

EVALUACIÓN *in vitro* DE LA EFICIENCIA DE ACEITES ESENCIALES DE CUATRO PLANTAS AROMÁTICAS CONTRA *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. & Sacc. CAUSANTE DE LA ANTRACNOSIS EN CULTIVOS DE ÑAME EN EL DEPARTAMENTO DE SUCRE

DEIMER CALIXTO VITOLA ROMERO
JESÚS MARÍA HERNÁNDEZ GÓMEZ

Trabajo presentado como requisito para optar al título de Biólogo.

DIRECTOR:
ALEXANDER PÉREZ CORDERO
I.A., M.Sc, Ph.D EN MICROBIOLOGÍA.

CODIRECTOR:
LEONARDO CHAMORRO ANAYA
BIÓLOGO, M.Sc EN BIOLOGÍA.

UNIVERSIDAD DE SUCRE
FACULTAD DE EDUCACIÓN Y CIENCIAS
PROGRAMA DE BIOLOGÍA
SINCELEJO
2015

NOTA DE ACEPTACIÓN:

_____

_____

_____

_____

_____

_____

_____
Firma del presidente del jurado

_____
Firma del jurado

_____
Firma del jurado

Sincelejo, Marzo de 2015.

“PERTENECE AL ESTUDIANTE EL DERECHO MORAL SOBRE LA PRODUCCIÓN INTELECTUAL QUE REALICE PERSONAL Y/O CON LA ORIENTACIÓN DE UN ASESOR O TUTOR, EN DESARROLLO DE LAS ACTIVIDADES ACADÉMICAS”
Art. 29 Res. 1675 del 2012

AGRADECIMIENTOS

Expresamos nuestros agradecimientos principalmente a **Dios** por ser nuestro guía, nuestra LUZ, por darnos la fortaleza para seguir adelante cuando hemos estado a punto de caer y por darnos la oportunidad de cumplir esta meta de culminar satisfactoriamente nuestro proyecto de pregrado.

A la **Universidad de Sucre**, alma mater de ciencia, tecnología e innovación por brindarnos sus espacios para desarrollar este proyecto de gran importancia para nuestra vida profesional.

Así mismo, nuestros más sinceros agradecimientos a todos los miembros que conforman el Grupo de Bioprospección Agropecuaria de la Universidad de Sucre, principalmente a su director el Doctor **ALEXANDER PÉREZ CORDERO** y al codirector de este proyecto el Magíster **LEONARDO CHAMORRO ANAYA** por su apoyo incondicional y por confiar en nuestras capacidades.

Ustedes nos han enseñado la responsabilidad y el rigor académico, gracias a los cuales, se elucidó el camino del éxito y así culminar satisfactoriamente este trabajo de pregrado, y a cambio se han ganado nuestra admiración y lealtad.

De mi parte, **Deimer C. Vitola Romero** brindo agradecimientos a mi madre Darlines Romero Ruíz, a mi hermana Melissa Vitola Romero, a mis sobrinas, a mi novia Cenerys Serna Pacheco y amigos por ser la fuente de mi apoyo tanto emocional como espiritual, además de su apoyo incondicional en estos duros años de carrera profesional, por estar a mi lado en los momentos buenos y malos.

También, brindo mis agradecimientos a la Magister Rita Luz Márquez Vizcaíno por ayudarme a formar como científico y como persona idónea; por sus conocimientos, por enseñarme su manera rigurosa de trabajar y a ser persistente, así como su responsabilidad y seriedad.

De mi parte **Jesús Hernández**, dedico este trabajo a mis padres y hermana, los cuales me han brindado el apoyo para cumplir el sueño de ser un profesional en Biología, a pesar de los obstáculos e inconvenientes presentados durante estos últimos años. También, agradezco el apoyo de amigos, familiares, y otras personas del entorno académico, quienes han sido parte de este proceso de formación, con quienes he compartido experiencias y conocimientos.

TABLA DE CONTENIDO

	pág.
INTRODUCCIÓN	20
1. MARCO REFERENCIAL	23
1.2 ACEITES ESENCIALES	23
1.2.1 Clasificación de los aceites esenciales	23
1.3 GÉNEROS DE PLANTAS EN EL DEPARTAMENTO DE SUCRE Y PROPIEDADES DE SUS ACEITES ESENCIALES	23
1.3.1 *Lippia*	23
1.3.2 *Ocimum*	24
1.3.3 *Cymbopogon*	24
1.3.4 *Cananga*	25
1.4 *Colletotrichum gloeosporioides*: AGENTE CAUSANTE DE LA ANTRACNOSIS	26
1.4.1 Generalidades	26
1.4.2 Taxonomía	27
1.4.3 Características morfológicas del género *Colletrotrichum*	27
1.4.4 Ciclo de vida del género *Colletotrichum*	27
2. METODOLOGÍA	30
2.1 RECOLECCION DEL MATERIAL VEGETAL	30
2.2 PROCESAMIENTO DEL MATERIAL VEGETAL	30
2.3 EXTRACCIÓN DE ACEITES ESENCIALES	30
2.4 HONGO	30

2.5 EVALUACIÓN *in vitro* DE LA ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA DE LOS ACEITES ESENCIALES 31

2.6 ANÁLISIS POR CROMATOGRAFÍA DE GASES/ESPECTRÓMETRIA DE MASAS (GC/MS) 31

2.7 ANÁLISIS DE RESULTADOS 32

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN 33

3.1 CLASIFICACIÓN CIENTÍFICA DE LOS EJEMPLARES VEGETALES 33

3.1.1 Lippia 33

3.1.2 Albahaca 34

3.1.3 Limoncillo 35

3.1.4 Flor de amor 36

3.2 EVALUACIÓN *in vitro* DE LA ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA DE LOS ACEITES ESENCIALES 37

3.2.1 Aceite esencial de Lippia de Sincelejo 38

3.2.1.1 Análisis estadístico 38

3.2.1.2 Análisis químico 39

3.2.2 Aceites esenciales de albahaca 40

3.2.2.1 Aceite esencial de albahaca de Sincelejo 40

3.2.2.2 Aceite esencial de albahaca de La Unión 40

3.2.2.3 Aceite esencial de albahaca de Sampués 41

3.2.2.4 Análisis estadístico 42

3.2.2.5 Análisis químico 43

3.2.3 Aceites esenciales de limoncillos 45

3.2.3.1 Aceite esencial de limoncillo Sincelejo 45

3.2.3.2 Aceite esencial de limoncillo de La Unión 45

3.2.3.3 Aceite esencial de limoncillo de Sampués 46

3.2.3.4 Análisis estadístico 47

3.2.3.5 Análisis químico 48

3.2.4 Aceite esencial de flor de amor 49

3.2.4.1 Aceite esencial de flor de amor de Sincelejo 49

3.2.4.2 Aceite esencial de flor de amor de La Unión 50

3.2.4.3 Análisis estadístico 51

3.2.4.4 Análisis químico 52

3.2.5 Comparación entre los tratamientos de aceites esenciales más eficientes 53

3.3 DETERMINACIÓN DE QUIMIOTIPOS 55

4. CONCLUSIONES 56

5. RECOMENDACIONES 57

BIBLIOGRAFÍA 58

ANEXOS 66

LISTA DE TABLAS

	pág.
Tabla 1. Resultados del análisis de varianza de los tratamientos de aceite esencial de Lippia cosechada en la ciudad de Sincelejo.	39
Tabla 2. Resultados del análisis de varianza de los tratamientos de aceite esencial de Albahaca cosechados en los municipios de Sincelejo, La Unión y Sampués.	42
Tabla 3. Resultados del análisis de varianza de los tratamientos de aceite esencial de Lippia cosechada en la ciudad de Sincelejo.	47
Tabla 4. Resultados del análisis de varianza de los tratamientos de aceite esencial de Flor de amor cosechada en los municipios de Sincelejo y La Unión.	52
Tabla 5. Quimiotipos correspondientes a cada especie vegetal analizada y su respectiva concentración.	55

LISTA DE FIGURAS

pág.

Figura 1. Sintomatología asociada a antracnosis ocasionada por *C. gloeosporioides* en hojas de ñame espino (*Dioscorea rotundata*). 26

Figura 2. Ciclo patológico de las antracnosis producidas por *Glomerella cingulata* y *Colletotrichum gloesporioides*. 28

Figura 3. Proceso de infección de *Colletotrichum higginsianum* (*Ch*) y *C. graminícola* (*Cg*). 29

Figura 4. *Lippia alba* (Mill.) N.E. Br. ex Britton & P. Wilson montada para la colección del Herbario de la Universidad de Sucre bajo registro N° 000830. 33

Figura 5. *Ocimum basilicum* L. recolectada en el municipio de Sincelejo montada para la colección del Herbario de la Universidad de Sucre bajo registro N° 000829. 34

Figura 6. *Cymbopogon citratus* (DC. ex Ness) Stapf recolectada en el municipio de Sampués montada para la colección del Herbario de la Universidad de Sucre bajo registro N° 000831. 35

Figura 7. *Cananga odorata* (Lam.) Hook. f. & Thomson recolectada en el municipio de La Unión montada para la colección del Herbario de la Universidad de Sucre bajo registro N° 000832. 36

Figura 8. A. Características culturales del aislado *Colletotrichum gloeosporioides*; B. Control negativo con acetona; C. Control positivo con benomil (1g/L). 37

Figura 9. Resultados de la prueba *in vitro* de la actividad antifúngica de Aceite esencial de Lippia a concentraciones de: A. 1.000 ppm; B. 3.000 ppm; C. 10.000 ppm. 38

Figura 10. Resultados de la prueba *in vitro* de la actividad antifúngica del aceite esencial de albahaca de Sincelejo a concentraciones de: A. 3.000 ppm; B. 5.000 ppm; C. 10.000 ppm. 41

Figura 11. Resultados de la prueba *in vitro* de la actividad antifúngica del aceite esencial de albahaca de La Unión a concentraciones de: A. 3.000 ppm; 41

B. 5.000 ppm; C. 10.000 ppm.

Figura 12. Resultados de la prueba *in vitro* de la actividad antifúngica del aceite esencial de albahaca de Sampués a concentraciones de: A. 3.000 ppm; B. 5.000 ppm; C. 10.000 ppm. 42

Figura 13. Resultados de la prueba *in vitro* de la actividad antifúngica del aceite esencial de limoncillo de Sincelejo a concentración de 5.000 ppm. 45

Figura 14. Resultados de la prueba *in vitro* de la actividad antifúngica del aceite esencial de limoncillo de La Unión a concentraciones de: A. 5.000 ppm, B. 8.000 ppm 46

Figura 15. Resultados de la prueba *in vitro* de la actividad antifúngica del aceite esencial de limoncillo de Sampués a concentraciones de: A. 5.000 ppm, B. 8.000 ppm; C. 10.000 ppm. 47

Figura 16. Resultados de la prueba *in vitro* de la actividad antifúngica del aceite esencial de flor de amor cosechada en Sincelejo a concentraciones de: A. 1.000 ppm, B. 2.000 ppm; C. 4.000 ppm. D. 10.000 ppm, E. 15.000 ppm, F. 20.000 ppm. 50

Figura 17. Resultados de la prueba *in vitro* de la actividad antifúngica del aceite esencial de flor de amor cosechada en La Unión a concentraciones de: A. 1.000 ppm, B. 2.000 ppm; C. 4.000 ppm. D. 10.000 ppm, E. 15.000 ppm, F. 20.000 ppm. 51

LISTA DE GRÁFICOS

pág.

Gráfico 1. Resultados de la Prueba de Tukey para la comparación entre los tratamientos de aceite esencial de Lippia. Tratamientos con igual letra no tienen diferencias significativas (α=0,05). 39

Gráfico 2. Resultados de la Prueba de Tukey para la comparación entre los tratamientos de aceite esencial de albahaca cosechados en los municipios de Sincelejo, La Unión y Sampués, todo en el departamento de Sucre. Tratamientos con igual letra no tienen diferencias significativas (α=0,05). 44

Gráfico 3. . Resultados de la Prueba de Tukey para la comparación entre los tratamientos de aceite esencial de limoncillo cosechados en los municipios de Sincelejo, La Unión y Sampués. Tratamientos con igual letra no tienen diferencias significativas (α=0,05). 48

Gráfico 4. . Resultados de la Prueba de Tukey para la comparación entre los tratamientos de aceite esencial de Flor de amor. Tratamientos con igual letra no tienen diferencias significativas (α=0,05). 52

Gráfico 5. Comparación entre los tratamientos de mayor eficiencia antifúngica, con respecto a la concentración y a la procedencia del vegetal. 54

LISTA DE ANEXOS

	pág.
Anexo A. Cromatógrafo de gases Agilent 6890N acoplado a un detector selectivo de masa Agilent 5973N.	66
Anexo B. Equipo de hidrodestilación asistida por radiación de microondas (MWHD).	67
Anexo C. Cromatograma del aceite esencial de lippia colectada en la ciudad de Sincelejo.	68
Anexo D. Perfil cromatográfico del aceite esencial de lippia de Sincelejo.	69
Anexo E. Cromatograma del aceite esencial de albahaca colectada en la ciudad de Sincelejo.	70
Anexo F. Perfil cromatográfico del aceite esencial de albahaca de Sincelejo.	71
Anexo G. Cromatograma del aceite esencial de Albahaca colectada en el municipio de La Unión.	72
Anexo H. Perfil cromatográfico del aceite esencial de Albahaca de La Unión.	73
Anexo I. Cromatograma del aceite esencial de Albahaca colectado en el municipio de Sampués.	74
Anexo J. Perfil cromatográfico del aceite esencial de Albahaca de Sampués.	75
Anexo K. Cromatograma del aceite esencial de limoncillo colectada en la ciudad de Sincelejo.	76
Anexo L. Perfil cromatográfico del aceite esencial de limoncillo de Sincelejo.	77
Anexo M. Cromatograma del aceite esencial de limoncillo colectada en el municipio de La Unión.	78
Anexo N. Perfil cromatográfico del aceite esencial de limoncillo de La Unión.	79

Anexo Ñ. Cromatograma del aceite esencial de limoncillo colectado en el municipio de Sampués. 80

Anexo O. Perfil cromatográfico del aceite esencial de limoncillo de Sampués. 81

Anexo P. Cromatograma del aceite esencial de flor de amor colectada en la ciudad de Sincelejo. 82

Anexo Q. Perfil cromatográfico del aceite esencial de flor de amor de Sincelejo. 83

Anexo R. Cromatograma del aceite esencial de flor de amor colectada en el municipio de La Unión. 85

Anexo S. Perfil cromatográfico del aceite esencial de flor de amor de La Unión. 86

ABREVIATURAS

MWHD: Hidrodestilación asistida por radiación de microondas.

%I.A: Porcentaje de Índice Antifúngico.

ppm: Partes por Millón.

Ln: Logaritmo Natural.

α: Nivel de Significancia.

mm: Milímetros.

GC-MS: Cromatografía de Gases Acoplada a Espectrometría de Masa.

not: Compuesto no identificado.

Pk#: Número de pico.

RT: Tiempo de retención.

RESUMEN

El ñame es uno de los principales productos de consumo humano en el mundo, y en Colombia su producción se centra en la Región Caribe donde tienen gran importancia socioeconómica, pero su producción se ha visto amenazada por la alta incidencia de enfermedades como la antracnosis ocasionada por el hongo *Colletotrichum gloeosporioides*, el cual, disminuye la calidad de los tubérculos.

Teniendo en cuenta la anterior problemática, un reto que se debe asumir es el aprovechamiento de la biodiversidad como potencial biológico en beneficio de la sociedad, realizando estudios que permitan el descubrimiento de moléculas bioactivas novedosas, las cuales pueden ser halladas a partir de fuentes naturales como los vegetales. El aumento de la resistencia de los microorganismos a los pesticidas sintéticos utilizados convencionalmente, ha creado la necesidad de buscar nuevas sustancias que permitan controlar enfermedades asociadas a fitopatógenos que mejoren la calidad de vida de la población.

En el departamento de Sucre, existe una amplia diversidad de especies vegetales, las cuales han sido solo estudiadas desde el punto de vista ecológico y botánico, siendo escasa o nula la información química o farmacológica de estas especies; de tal manera que se desconoce su posible potencial biológico en la inhibición de microorganismos causantes de enfermedades.

Por esta razón se hace necesario aprovechar especies vegetales como especies de *Cymbopogon citratus* (Limoncillo), *Ocimum basilicum* (Albahaca), *Lippia alba* (Lippia) y *Cananga odorata* (Flor de Amor o ylang-ylang), para determinar compuestos químicos y sustancias biológicamente activas con efectos antimicrobianos que permitan controlar *C. gloeosporioides* un fitopatógeno de importancia económica por las pérdidas que ocasiona en el cultivo del ñame. Los aceites esenciales utilizados en este proyecto se extrajeron de las especies vegetales anteriormente mencionadas, de las cuales se prepararon concentraciones desde 1.000 ppm hasta 20.000 ppm, encontrándose que el aceite esencial obtenido de plantas de limoncillo colectadas en el municipio de Sincelejo a concentración de 5.000 ppm tuvo un índice antifúngico (%I.A) de 97,77%, con respecto a los aceites de limoncillo colectado en el municipio de La Unión-Sucre que presentó el mismo índice antifúngico a una concentración de 8.000 ppm. Asimismo los aceites de limoncillo de Sampués; Lippia de Sincelejo; Albahaca de Sampués, La Unión y Sincelejo tuvieron actividad antifúngica a concentración de 10.000 ppm y finalmente el aceite obtenido de flor de amor, colectado en el municipio de Sincelejo y la Unión a 20.000 ppm, mostraron la misma actividad. Lo anterior demuestra que el aceite esencial de limoncillo de Sincelejo tuvo mayor eficiencia

antifúngica con respecto a la concentración utilizada sobre este hongo fitopatógeno.

El análisis cromatográfico realizado demostró que la especie vegetal de Lippia cosechada en Sincelejo corresponde al quimiotipo citral, Albahaca cosechado en Sincelejo, Sampués y La Unión al quimiotipo Eugenol, limoncillo cosechado en Sincelejo, Sampués y La Unión al quimiotipo Geranial, la flor de amor cosecha en Sincelejo al quimiotipo Linalool y por último la flor de amor cosechada en La Unión al quimiotipo Benzoato de Bencilo.

Palabras claves. Bioactivos vegetales, Fitopatogeno, *Dioscorea* spp., Actividad Inhibitoria.

ABSTRACT

Yam is a major consumer products in the world and in Colombia production focuses on the Caribbean Region which have great economic importance, but its production has been threatened by the high incidence of diseases such as anthracnose caused by the fungus *Colletotrichum gloeosporioides*, which decreases the quality of the tubers.

Considering the above problem, a challenge that must be undertaken is the use of biodiversity as biological potential to benefit society, making studies to enable the discovery of novel bioactive molecules, which can be found from natural sources such as vegetables. The increasing resistance of microorganisms to synthetic pesticides used conventionally has created the need for new substances that allow controlling phyto-pathogenic diseases associated to improve the quality of life of the population.

In the department of Sucre, a wide diversity of plant species, which have only been studied from an ecological point of view and botanical, with little or no chemical or pharmacological information on these species; so that its possible biological potential is unknown at the inhibition of disease-causing microorganisms.

For this reason it is necessary to exploit plant species as species of *Cymbopogon citratus* (Lemongrass), *Ocimum basilicum* (Albahaca), *Lippia alba* (Lippia) and *Cananga odorata* (Flower of Love o ylang-ylang) to determine chemical compounds and biologically active substances with antimicrobial effects that will control *C. gloeosporioides* a phytopathogenic important economic losses caused by the cultivation yam. The essential oils used in this project were extracted from the plant species mentioned above, of which concentrations were prepared from 1.000 ppm to 20.000 ppm, found that the essential oil from lemon grass plants collected in the town of Sincelejo a concentration of 5.000 ppm had an antifungal index (%IA) of 97,77% compared to oils of lemongrass collected in the municipality of La Union-Sucre presented the same antifungal index at a concentration of 8.000 ppm. Also lemongrass oils Sampués; Lippia of Sincelejo; Albahaca of Sampués, La Union and Sincelejo had antifungal activity concentration of 10.000 ppm and finally the oil obtained from flower of love, collected in the town of Sincelejo and the Union to 20.000 ppm, showed the same activity. This shows that the essential oil of lemongrass of Sincelejo had higher antifungal efficiency with respect to the concentration used this plant pathogenic fungus.

The chromatographic analysis showed that the plant species of Lippia harvested in Sincelejo corresponds to citral chemotype, Albahaca harvested in Sincelejo, Sampués and La Union to chemotype Eugenol, lemongrass harvested in Sincelejo,
Sampués and La Union to chemotype Geranial, the flower of love harvest in Sincelejo to

Linalool chemotype and finally harvested flower love in La Union to chemotype Benzyl benzoate.

Keys words. Bioactive plant, plant pathogen, *Dioscorea* spp., Inhibitory Activity

INTRODUCCIÓN

América Latina y el Caribe es la región con mayor diversidad biológica del planeta presentando casi la mitad de los bosques tropicales y alberga varios de los países megadiversos del mundo, y esta excepcional biodiversidad permite que países como Colombia cosechen sus beneficios con el fin de promover el crecimiento social y económico (Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente. Oficina Regional para América Latina y el Caribe, 2011).

Colombia esta denominado por el Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente (2011) como uno de los 17 países megadiversos, hospedando el 70% de la biodiversidad mundial en tan solo el 10% del territorio, en donde se han registrado más de 54.000 especies según los datos de la Infraestructura Mundial de Información sobre Biodiversidad, compartiendo con Brasil el primer lugar en término de biodiversidad mundial, caracterizada además, por la importancias de sus bosque naturales, que cubren el 53% del territorio nacional continental y concentra aproximadamente la mitad de especies de animales y plantas del planeta, por lo que ocupa el primer lugar como país rico en diversidad de aves y orquídeas, el segundo en diversidad de plantas, anfibios, peces de río y mariposas, el tercero en diversidad de reptiles y palmas, y el cuarto en diversidad de mamíferos (Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt Colombia, 2014).

Aunque toda esta gran diversidad de plantas está presente en el territorio nacional, aun cuentan con poca investigación etnobotánica y fitoquímica, por lo cual, esta materia prima se constituye en una gran alternativa fitosanitaria para contrarrestar las enfermedades que aquejan a la salud de personas y animales, y principalmente cultivos de importancia económica, puesto que desde tiempos remotos la agricultura ha sido la base para el desarrollo social y económico de los territorios, pero esta se ve impedida por la alta incidencia de enfermedades infecciosas ocasionada por microorganismos patógenos.

En la región Caribe Colombiana son muchos los cultivos que son afectados por estos agentes patógenos, como es el caso del ñame (*Dioscorea* spp.). *Dioscorea* es uno de los 6 géneros anidados en la familia Dioscoreaceae donde se encuentran aproximadamente 600 especies de las cuales solo 12 son comestibles. En Colombia la producción principal se centra en el Caribe donde tiene gran importancia socioeconómica, por lo que en 2010, Colombia se ubicó entre los 12 países con mayor producción de ñame a nivel mundial con 395.374 toneladas y ocupó el primer lugar en rendimiento con 28,30 toneladas por hectárea sembrada (Reina, 2012).

En 2012 el PIB del departamento de Sucre creció 5,50%, aunque la agricultura,

ganadería, caza, silvicultura y pesca desaceleró a 6,40%, pero en 2013 el sector agropecuario y caza creció un 131,60% con respecto al año anterior, presentando el 68,90% de lo exportado por el departamento (DANE & Banco de la República, 2012). Son muchos los productos agrícolas cultivados en Sucre, entre los cuales se siembran las variedades de ñame criollo y espino, siendo los municipios de Ovejas, Los Palmitos y Sincelejo los de mayor producción (Secretaria de Desarrollo Económico y Medio Ambiente de Sucre, 2008) generando fuentes de empleo directos e indirectos en su cadena productiva, pero este tubérculo ha sido blanco de numerosos patógenos como el hongo *Colletotrichum gloeosporioides* causante de la antracnosis y en la región caribe colombiana ha ocasionado pérdidas hasta en un 85% (Green, Abang & Lloba, 2000). Esta enfermedad se manifiesta en tubérculos, hojas, pecíolos y/o tallos (Pérez, Saquero & Beltrán, 2003; Cerón, Higuera, Sánchez, Bustamante & Buitrago, 2006). Durante el inicio de la enfermedad, las hojas presentan en el haz puntos rojizos de apariencia hendida con halo amarillo y en el envés se observa ennegrecimiento de las nervaduras, y con el pasar del tiempo, las lesiones crecen en forma irregular y se unen entre sí ocasionando finalmente necrosis en la hoja, también causa necrosis en el tallo y finalmente la muerte descendente de la planta (Cerón, Higuera, Sánchez, Bustamante & Buitrago, 2006).

C. gloeosporioides tiene amplia distribución en las regiones tropicales y subtropicales del mundo (Pinzón, Bustamante & Buitrago, 2013) y es causante de grandes pérdidas económicas en diferentes cultivos como frutales, cereales, pastos, vegetales, legumbres y cultivos perennes (Afanador-Kafuri, Minz, Maymond & Freeman, 2003). Además de causar daños al ñame, también ataca los cultivos de guanábana (*Annona muricata* L.) causando hasta el 90% de pérdidas en huertos no tecnificados (Álvarez, Ospina, Mejía & Llano, 2004), de tomate de árbol [*Cyphomandra betacea* (Cav.) Sendt.], de manzano (*Malus domestica* Borkh), de mora (*Rubus glaucus* Benth) provoca pérdidas superiores al 50% (Saldarriaga-Cardona, Castaño-Zapata & Arango-Isaza, 2008) y antracnosis al aguacate (*Persea americana* Mill.) afectando la calidad de los frutos y pérdidas cercanas al 20% de la producción (Rodríguez-López, González-Prieto & Mayek-Pérez, 2009).

En la actualidad, los agricultores emplean dosis continua de fungicidas para contrarrestar los efectos de este hongo sobre los cultivo, principalmente de ñame. Estudios realizados y publicados en bibliografías especializadas demuestran que estos compuestos producen problemas ambientales, en la salud de humanos, de animales y en la diversidad microbiana. Asimismo, se han mejorado variedades tolerantes a este fitopatógeno sin obtener resultados satisfactorios en campo.

Con base en este escenario, se demanda un cambio urgente del manejo a los cultivos, por lo que es necesario desarrollar nuevas alternativas que coadyuven al desarrollo agrosostenible del ambiente. Esta problemática, es posible solucionarla a través de un

manejo integrado de las enfermedades, es allí donde la agroecología juega un rol importante, por propiciar el equilibrio entre el hombre y la naturaleza adoptando un sistema de producción que permita mejorar la calidad de los suelos y obtener productos limpios para el consumo humano. La utilización de productos de base biológica es la solución práctica, es decir, el uso de productos derivados de la biodiversidad para el control de fitopatógenos, como es el caso de los aceites esenciales de origen vegetal.

Los aceites esenciales en los últimos años se han posicionado como una gran alternativa agronómica para sustituir los plaguicidas sintéticos del mercado actual, por poseer propiedades antifúngicas, antibacteriales, antivirales, etc. Además de esto, pueden sustituir los aditivos sintéticos en los alimentos, favoreciendo la estabilidad de los mismos y protección contra las alteraciones lipídicas por su actividad antioxidante (Vásquez, 2012). Por ello, se pretende evaluar *in vitro* la actividad de aceites esenciales de vegetales contra *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. & Sacc. causante de la antracnosis en cultivos de ñame en el departamento de Sucre.

1. MARCO REFERENCIAL

1.2 ACEITES ESENCIALES

Son fracciones líquidas volátiles, producto del metabolismo secundario de las plantas, están compuestos por terpenoides, mayoritariamente monoterpenos y sesquiterpenos, así como por fenoles aromáticos, óxidos, esteres, alcoholes, éteres, aldehídos y cetonas que determinan el olor característico de cada aceites (Betts, 2001; Bakkalli, Averbeck, Averbeck & Idaomar, 2008). La presencia de estos aceites esenciales en las plantas constituyen una verdadera y eficaz barrera de defensa contra herbívoros, insectos y hongos (Bakkalli, Averbeck, Averbeck & Idaomar, 2008).

1.2.1 Clasificación de los Aceites Esenciales. La clasificación de los aceites esenciales se puede desarrollar mediante los criterios de consistencia y origen (Rodríguez-Álvarez, Alcaráz-Meléndez & Real-Cosío, 2012).

Por su consistencia, como:

- Las esencias fluidas que son líquidos volátiles a temperatura ambiente.
- Los bálsamos que son de consistencia más espesa, poco volátiles y propensos a sufrir reacciones de polimerización.
- Las oleorresinas, las cuales tienen el aroma de las plantas en forma concentrada y son típicamente líquidos muy viscosos o sustancias semisólidas.

Por su origen, como:

- Los naturales que se obtienen directamente desde las plantas y no sufren modificaciones físicas ni químicas posteriores, y por su rendimiento tan bajo son muy costosos.
- Los artificiales se obtienen a través de procesos de enriquecimiento mediante mezclas de esencias.
- Los sintéticos son producidos por proceso de síntesis química.

1.3 GÉNEROS DE PLANTAS EN EL DEPARTAMENTO DE SUCRE Y PROPIEDADES DE SUS ACEITES ESENCIALES.

1.3.1 *Lippia:* según los datos de la Colección Científica en Línea del Herbario de la Universidad Nacional de Colombia (2014) este género se encuentra anidado en el reino Plantae; filum Magnoliophyta; clase Magnoliopsida; orden Lamiales; familia Verbenaceae, presentando hasta la fecha 139 registros en todo el país y 26 de los cuales son para la Región Caribe, 30 correspondientes a la especie *Lippia alba* (Mill.) N.E. Br.

Este género es uno de los de mayor explotación por sus aceites esenciales, incluye alrededor de 200 especies de hierbas, arbustos y árboles pequeños; la mayoría se encuentran distribuidos en Centro y Sudamérica, y en la zona tropical africana (Vásquez, 2012).

En los aceites esenciales del genero *Lippia* se han caracterizado cantidades significativas de timol y el carvacrol que son compuestos fenólicos naturales que se le han atribuido efectos importantes como antioxidantes, antifúngicos y antibacteriales, acaricidas, analgésicas, antiacné, antiespasmódicas, deodorantes, dermatigénicas, expectorantes, insecticidas, larvicidas, pesticidas y vermicida (Vásquez, 2012).

1.3.2 *Ocimum:* según los datos de la Colección Científica en Línea del Herbario de la Universidad Nacional de Colombia (2014) este género se encuentra ubicado en el reino Plantae; filum Magnoliophyta; clase Magnoliopsida; orden Lamiales; familia Lamiaceae, presentando hasta la fecha 105 registros en todo el país y para la Región Caribe 11 reportes.

En este género se encuentra la especie *Ocimum basilicum*, la cual es una planta medicinal aromática que tiene un alto contenido de aceites esenciales rico en Eugenol, de amplio uso en la medicina (Sam, de la Luz & Barroso, 2002). En estudios realizados por Grayer *et al.* (1996) se ha confirmado la presencia en sus aceites esenciales de Linalool, Metil chavicol, Eugenol y Geraniol. Además, se ha reportado actividad antifúngica contra *Aspergillus niger, Mucor mucedo, Fusarium solani*, entre otros (Hussain, Anwar, Hussain & Przybylski, 2008).

En medicina popular se emplean las hojas y flores de *Ocimum basilicum* en infusión y en decocción (Beyra *et al.*, 2004) para curar afecciones gastrointestinales (diarreas, parásitos), respiratorias (bronquitis, tos), dolor de oídos y reumatismo (Sánchez, Leal, Fuentes & Rodríguez, 2000).

1.3.3 *Cymbopogon:* según los datos de la Colección Científica en Línea del Herbario de la Universidad Nacional de Colombia (2014) este género se encuentra ubicado en el reino Plantae; filum Magnoliophyta; clase Liliopsida; orden Cyperales; familia Poaceae, presentando hasta la fecha 26 registros en todo el país y uno solo para la Región Caribe, 22 de estos registros corresponden con la especie *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf. y 2 a la especie *Cymbopogon nardus* (L.) Rendle.

En medicina tradicional se emplean las hojas de *Cymbopogon citratus* en forma de decocción (Lagos-López, 2007) o infusión, así como diversos extractos preparados los cuales han demostrado diversas propiedades (Rojas, Ronceros, Palacios & Sevilla, 2012).

Este género *Cymbopogon* incluye alrededor de 120 especies, entras las más importantes se encuentran *Cymbopogon nardus, C. winterrianus, C. flexuosus* y *C. citratus* (Soto, Vega & Tamajón, 2002) conocida comúnmente como limoncillo. El aceite esencial de esta planta es mundialmente conocido por sus múltiples usos y por tal se han realizado muchos estudios de actividad antiinflamatoria, analgésica, antiasmática, diurética, antispasmódica, antimicrobian, toxicidad y genotoxicidad, entre otras (Guerra, Rodríguez, García & Llerena, 2004).

El componente mayoritario identificado en *Cymbopogon citratus* colectada en la Costa Caribe Colombia fue el citral siendo este el 76,70% del aceite obtenido (Mendoza & Taborda, 2010), y se ha demostrado que los aceites esenciales abundantes en citral son bien conocidos por sus propiedades bactericidas y fungicidas (Pattnaik *et al.,* 1996, citado por Negrelle & Gomes, 2007) y el mirceno refuerza este efecto cuando se mezclan (Onawunmi, 1989, citado por Negrelle & Gomes, 2007).

El aceite esencial de *Cymbopogon citratus* mostro actividad antifúngica contra *Colletotrichum acutatum* a concentraciones de 350 y 400 mg/L y su componente mayoritario el citral a 250 y 300 mg/L (Alzate, Mier, Afanador, Durango & García, 2009).

1.3.4 *Cananga*: según los datos de la Colección Científica en Línea del Herbario de la Universidad Nacional de Colombia (2014) este género se encuentra anidado en el reino Plantae; filum Magnoliophyta; clase Magnoliopsida; orden Magnoliales; familia Annonaceae, presentando hasta la fecha 15 registros en todo el país correspondientes a la especie *Cananga odorata* (Lam.) Hook. f. & Thomson y cero para la Región Caribe, por lo que este se constituye como el primer registro de este género en esta región de Colombia.

En la especie *Cananga odorata* (Lam.) Hook.f. & Thomson, conocida comúnmente como flor de amor; la flor surge de las axilas de las hojas, son muy fragantes, de color amarillo verdoso con largos pétalos. La planta es muy útil contra pitta, dolencia estomacal, fiebre, inflamación, sensación de ardor, fiebre malaria, asma en aromaterapia, la hipertensión, la ansiedad, la depresión y como estimulante sexual (Indrakumar, Selvi, Gomathi & Karpagam, 2012).

La producción de ylang ylang es de gran valor cultural y económico en el archipiélago de Indonesia y es el segundo producto de exportanción después del petróleo en las islas Comoras. El aceite esencial de ylang ylang es utilizado principalmente en la industria cosmética en aplicaciones que van desde la alta perfumería hasta en la fabricación de jabones y en menor medida en aromaterapia e incluso como ingrediente de alimentos (Benini, Danflous, Wathelet, du Jardin & Fauconnier, 2010.). En *Cananga odorata* (Lam.) Hook.f. & Thomson se han identificados alrededor de 146 metabolitos secundarios entre los que se encuentran el β-mircyno, α-felandreno, β-limoneno,

linalool, neral, geraniol, geranial, eugenol, α- y β-ylangeno, entre otros (Brokl *et al.*, 2013).

1.4 *Colletotrichum gloeosporioides*: AGENTE CAUSAL DE LA ANTRACNOSIS

1.4.1 Generalidades. *Colletotrihum* spp. tiene amplia distribución en las regiones tropicales y subtropicales del mundo (Pinzon, Bustamante & Buitrago, 2013) y es causante de grandes pérdidas económicas en diferentes cultivos como frutales, cereales, pastos, vegetales, legumbres y cultivos perennes (Afanador-Kafuri, Minz, Maymond & Freeman, 2003). Entre las especies de este género se destaca *C. gloeosporioides*, el cual ataca cultivos como la guanábana (*Annona muricata* L.) que causa hasta el 90% de pérdidas en huertos no tecnificados (Álvarez, Ospina, Mejía & Llano, 2004); en tomate de árbol (*Cyphomandra betacea* (Cav.) Sendt.), manzano (*Malus domestica* Borkh) y mora (*Rubus glaucus* Benth) provoca pérdidas superiores al 50% (Saldarriaga-Cardona, Castaño-Zapata & Arango-Isaza, 2008). En los cultivos de ñame (*Dioscorea* spp.) de la región caribe colombiana ha ocasionado pérdidas hasta en un 85% (Green, Abang & Lloba, 2000).

En el ñame, la enfermedad se manifiesta en tubérculos, hojas, pecíolos y/o tallos (Cerón, Higuera, Sánchez, Bustamante, & Buitrago, 2006; Pérez, Saquero & Beltrán, 2003). Durante el inicio de la enfermedad, las hojas presentan en el haz puntos rojizos de apariencia hendida con halo amarillo (Figura 1) y en el envés se observa ennegrecimiento de las nervaduras, y con el pasar del tiempo, las lesiones crecen en forma irregular y se unen entre sí ocasionando finalmente necrosis en la hoja, así mismo en los tallos causando la muerte descendente de la planta (Cerón, Higuera, Sánchez, Bustamante & Buitrago, 2006).

Figura 1. Sintomatología asociada a antracnosis ocasionada por *C. gloeosporioides* en hojas de ñame espino (*Dioscorea rotundata*).

Fuente: Vitola-R y Hernández-G.

1.4.2 Taxonomía. Según la base de datos del Centro Nacional de Información Biotecnológica de los Estados Unidos de América (NCBI, 2014) esta especie se encuentra anidada en el reino Fungi; subreino Dikarya; filum Ascomycota; subfilum Pezizomycotina; clase Sordariomycetes; subclase Hypocreomycetidae; orden Glomerellales; familia Glomerellaceae; género *Glomerella*; especie *Glomerella cingulata* (Stoneman) Spauld y H. Schrenk, (fase teleomórfica, sexual o perfecta) o *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. and Sacc. (fase anamórfica, asexual o imperfecta).

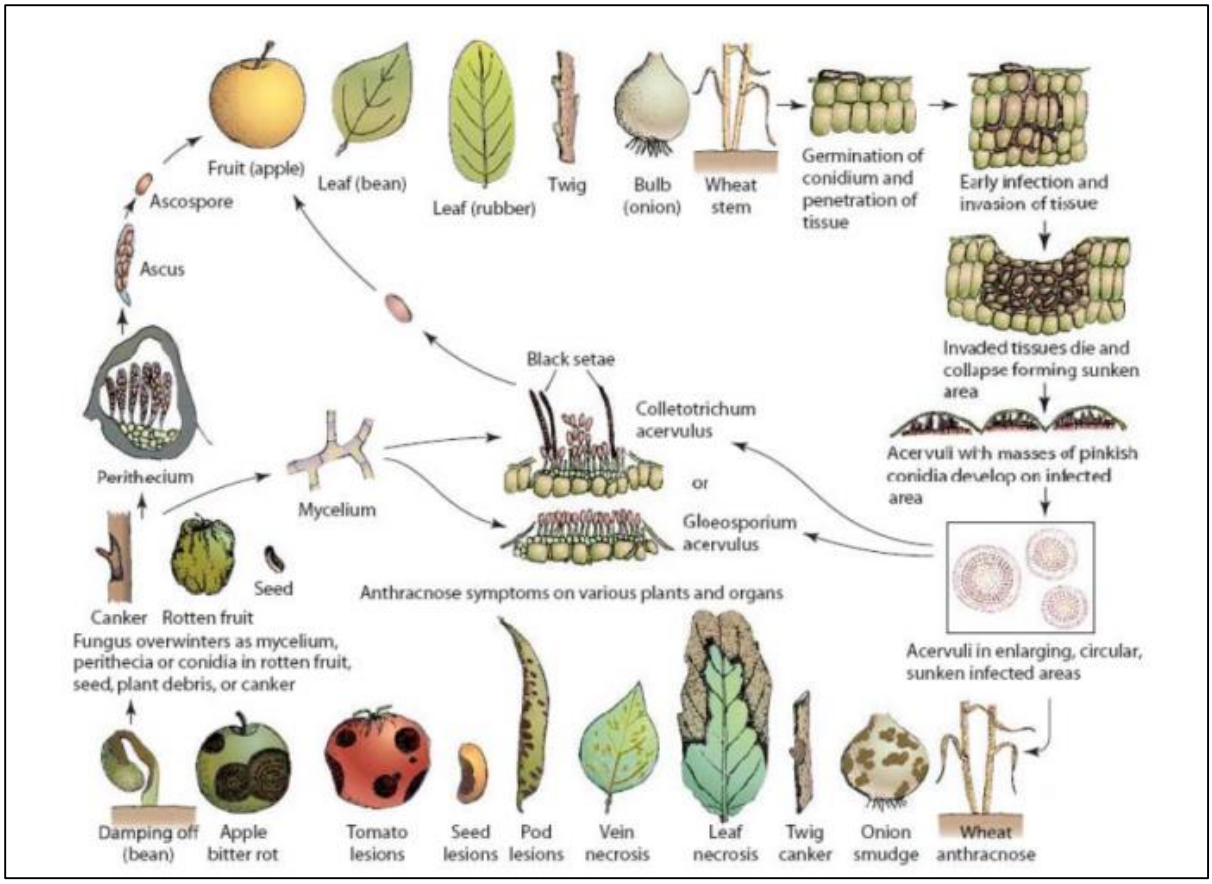
1.4.3 Características morfológicas del Género *Colletotrichum.* Según Barnett & Hunter (1998) y Holliday (1995), este género presenta un micelio septado de coloración hialina o castaña clara. Los acérvulos, donde se forman las conidias, tienen forma de disco o cojín, con una textura cerosa y se ubican en el tejido infectado en forma subepidermal, epidermal o subcuticular, además de presentar setas o espinas negras en los bordes o entre el conidióforo. Los acérvulos están formados por pseudoparénquima con paredes delgadas o gruesas; los conidióforos son simples, elongados con muchas conidias. Las conidias son hialinas, curvadas y fusiformes, y por lo general un acérvulo setoso.

1.4.4 Ciclo de vida del Género *Colletotrichum*. Para cada planta hay una especie de hongo asociada, los ciclos de vida de los hongos, los síntomas, el desarrollo de la enfermedad y el control de esta última son casi los mismos en todos los casos (Agrios, 2002). Además, los síntomas de la antracnosis pueden aparecer en campo dependiendo del hospedante del fitopatógeno y las condiciones medioambientales (Gomes, Osama & Massola, 2013). También, las plantas en cualquiera de las fases de su desarrollo se encuentran sujetas a las antracnosis (Agrios, 2002).

Los acérvulos, los cuales están formados por un estroma micelial en forma de cojín, por debajo de la cutícula de la planta, la cual rompe al ejercer una cierta presión hacia la parte superior de la masa de conidióforos y conidios en proceso de desarrollo (Agrios, 2002). Los conidios formados son liberados cuando hay presencia de humedad, y estos son transportados por la lluvia, el viento o al entrar en contacto con insectos, otros animales, etc. (Da Silva & Michereff, 2013).

Las especies de *Colletotrichum* entran a la planta hospedante mediante tres formas: a través de heridas, aberturas naturales o directamente vía apresorio (Figura 3) (Jeffries, Dodd, Jeger & Plumbley, 1990). Un gran número de especies de *Colletotrichum* entran directamente y la formación del apresorio es un pre-requisito para la invasión del tejido del hospedador (Gomes, Osama & Massola, 2013).

Figura 2. Ciclo patológico de las antracnosis producidas por *Glomerella cingulata* y *Colletotrichum gloesporioides*.

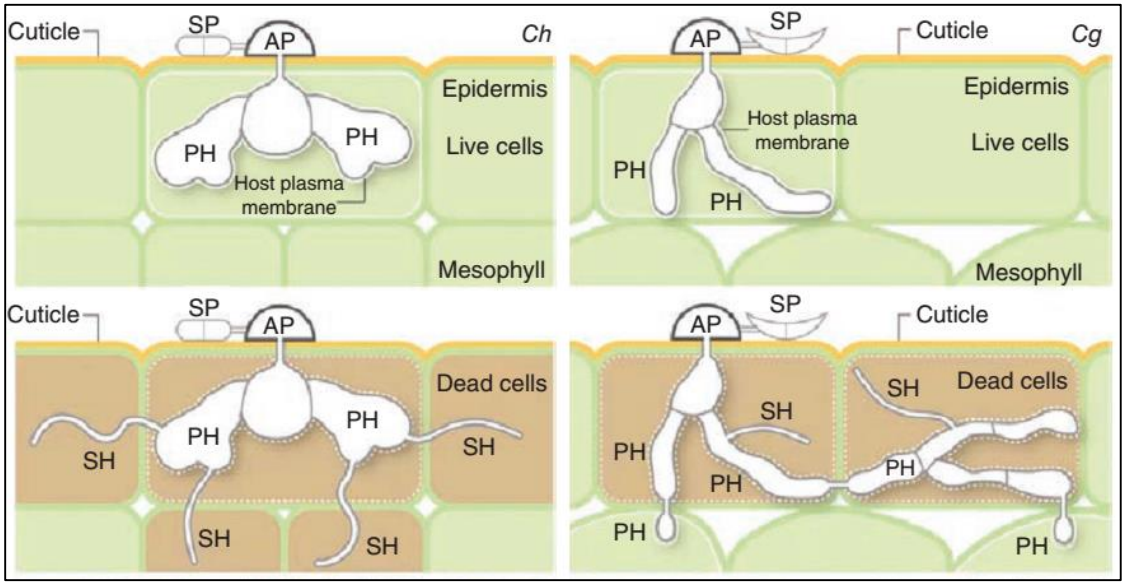


Fuente: Agrios, 2002.

Para que se dé la formación del apresorio es necesaria la presencia de compuestos como el etileno (Flaishman & Kolattukudy, 1994) en la superficie del tejido del hospedador. Además, cuando se da el contacto planta-patógeno. Kim, Li & Kolattukudy (1998) sugieren que el hongo induce la señalización de Ca^{+2}-Calmodulina, el cual prepara a los conidios para responder a las señales provenientes del huésped para la germinación y la diferenciación de estos en apresorios.

Después que se da la penetración de la planta, se dan dos fases de alimentación del patógeno: Primera fase (biotrófica), donde se obtienen nutrientes de las células vivas del hospedero, y la segunda fase (necrotrófica), donde se alimenta de las células hospederas muertas a causa del ataque del hongo (Bailey and Jeger, 1992). La fase biótrofa es corta y en ésta se asegura el establecimiento del patógeno, sin daños severos en el tejido vegetal (De Los Santos-Villalobos *et al*., 2011).

Figura 3. Proceso de infección de *Colletotrichum higginsianum* (*Ch*) y *C. graminícola* (*Cg*). SP, espora (conidio); AP, Apresorio; PH, Hifa biotrófica primaria; SH, Hifa necrotrófica secundaria.



Fuente: O'Connell *et al*., 2012.

La fase necrotrófica va ligada a la aparición de los síntomas de la antracnosis, ya que hay una estrecha relación entre su aparición, el incremento en la expresión enzimática para degradar la pared celular vegetal y la virulencia del patógeno (Centis, Guillas, Séjalon, Esquerré & Dumas, 1997).

Además, *Colletotrichum* causa infecciones quiescentes en frutos, ubicando a este hongo entre los fitopatógenos más importantes en poscosecha (Gomes, Osama & Massola, 2013). Las infecciones quiescentes son una respuesta a condiciones adversas en el hospedante; circunstancias como la falta de nutrientes e importantes enzimas para los patógenos, así como la presencia de compuestos antifúngicos preformados están relacionados a la quiescencia (Da Silva & Michereff, 2013).

2. METODOLOGÍA

2.1 RECOLECCIÓN DEL MATERIAL VEGETAL

Las muestra de limoncillos, Albahaca, lippia y flor de amor fueron recolectadas en diferentes zonas del departamento de Sucre entre los 60 a 213 msnm y entre los 8° 51' 26" N, 75° 16' 36" O y 9° 17' 58" N, 75° 23' 45" O. El muestreo de las especies vegetales se llevó a cabo durante la puesta del sol, para evitar que las altas temperaturas pudieran volatizar algunos componentes presentes en las muestras. El material vegetal se empacó en un contenedor de poliestireno expandido (icopor) y se preservó a 25ºC (Granados, Yáñez & Santafé, 2012). Muestras de cada una de las plantas, fueron identificadas en el Herbario de la Universidad de Sucre, registro nacional de colecciones biológicas.

2.2 PROCESAMIENTO DEL MATERIAL VEGETAL

Las plantas y sus tejidos de interés colectados fueron lavadas con agua y seleccionadas para garantizar buen estado; seguidamente se trocearon, pesaron y se sometieron al proceso de extracción.

2.3 EXTRACCIÓN DE LOS ACEITES ESENCIALES

Se realizó por el método hidrodestilación asistida por microondas (MWHD). Se empleó un equipo de hidrodestilación con capacidad para 2L (balón de destilación). Se pesaron aproximadamente 300g de material vegetal, seleccionado y troceado, y fueron introducidos en el balón de extracción, el cual contenía 250mL de agua destilada. En el proceso de arrastre con vapor empleando calentamiento el tiempo de extracción fue de 30 minutos divididos en 3 ciclos de 10 minutos cada uno. Como fuente de radiación microondas se empleó un horno convencional (SAMSUNG AME9114ST). En ambos casos, los aceites esenciales (AE) se colectaron en un recipiente tipo Dean Stark. El AE se separó por decantación e inmediatamente fue almacenado en un vial ámbar de 4mL.

2.4 HONGO

El hongo utilizado para los ensayos antimicrobianos corresponde a la cepa identificada por la Universidad de los Andes como *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. and Sacc. agente causal de la enfermedad conocida como la antracnosis en cultivos de ñame en el departamento de Sucre.

2.5 EVALUACIÓN *in vitro* DE LA ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA DEL ACEITE ESENCIAL

La prueba de actividad inhibitoria de aceites esenciales de las diferentes especies vegetales se llevó a cabo contra el hongo fitopatógeno *Colletotrichum gloeosporioides*, agente causal de la enfermedad conocida como la antracnosis del ñame y como control positivo se utilizó aislado de *Phytophthora cinnamomi* causante de la enfermedad tristeza en cultivos de aguacate.

Para la prueba de actividad inhibitoria se utilizó el método de siembra directa con crecimiento puro de los aislados. Se realizaron siembras de cada aislado de aproximadamente 6mm de diámetro de área de crecimiento (Pérez, Rojas, Chamorro & Pérez, 2011) los cuales fueron sembrados sobre la superficie del medio papa dextrosa agar (PDA) enriquecido con los antibióticos cloranfenicol, ampicilina y rifampicina. La prueba de inhibición se desarrolló de la siguiente manera: Los aislados sembrados en PDA, se les adicionó 30µL de cada aceite esencial a diferentes concentraciones en ppm disuelto en acetona. Se utilizó un control positivo con Benomil (1g/L), el cual corresponde con las dosis de este antifúngico utilizado por los cultivadores de ñame en el departamento de Sucre 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: $\% I.A=[1-(D_a/ D_b)] \times 100$, donde D_a corresponde al crecimiento de cada tratamiento y D_b al crecimiento del testigo absoluto (Guo *et al.*, 2008). Para determinar la eficiencia de cada aceite, se resta el %I.A del control negativo (acetona) al %I.A de cada aceite esencial y se compara con el control positivo.

2.6 ANÁLISIS POR CROMATOGRAFÍA DE GASES/ESPECTRÓMETRO DE MASA (GC/MS)

La determinación de los componentes químicos de los aceites esenciales se efectuó mediante la técnica instrumental de Cromatografía de Gases acoplada a Espectrometría de Masa (GC/MS), utilizando un equipo de cromatografía de gases Agilent 6890N acoplado a un detector selectivo de masa Agilent 5973N. Los índices de Kóvats fueron determinados en una columna capilar ligeramente polar DB_5MS longitud de 30m x 320µm x 0,5µm. Utilizando como gas de arrastre el Helio con una presión de 0,27psi y un promedio de velocidad de flujo de 40cm/seg. La temperatura inicial del horno fue de 150°C y la final de 350°C. La temperatura del inyector fue de 250°C y la del detector fue de 300°C. La identidad de los componentes se asignó por comparación del espectro de masas obtenido experimentalmente para cada componente, con los reportados en las bases de datos de NIST98.L, NIST02.L y

NIST5a.L.

2.7 ANÁLISIS DE RESULTADOS

Todos los ensayos se realizaron por triplicado. 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 frente a los aceites en función a la concentración utilizada. El análisis estadístico se realizó utilizando el programa R (The R Project for Statistical Computing).

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

3.1 CLASIFICACIÓN CIENTÍFICA DE LOS EJEMPLARES VEGETALES

Los ejemplares colectados en cada uno de los sitios de muestreo fueron llevados hasta el Herbario de la Universidad de Sucre para su identificación.

3.1.1 Lippia. Esta planta fue identificada como *Lippia alba* (Mill.) N.E. Br. ex Britton & P. Wilson, la cual hace parte de la familia Verbenaceae, (Figura 4).

Figura 4. *Lippia alba* (Mill.) N.E. Br. ex Britton & P. Wilson montada para la colección del Herbario de la Universidad de Sucre bajo registro N° 000830.

Fuente: Vitola-R y Hernández-G.

3.1.2 Albahaca. Los ejemplares recolectados en los municipios de Sincelejo, Sampués y La Unión corresponden a la especie *Ocimum basilicum* L. la cual hace parte de la familia Lamiaceae (Figura 5).

Figura 5. *Ocimum basilicum* L. recolectada en el municipio de Sincelejo montada para la colección del Herbario de la Universidad de Sucre bajo registro N° 000829.

Fuente: Vitola-R y Hernández-G.

3.1.3 Limoncillo. Los ejemplares recolectados en los municipios de Sincelejo, Sampués y La Unión corresponden a la especie *Cymbopogon citratus* (DC. ex Ness) Stapf la cual hace parte de la familia Poaceae (Figura 6).

Figura 6. *Cymbopogon citratus* (DC. ex Ness) Stapf recolectada en el municipio de Sampués montada para la colección del Herbario de la Universidad de Sucre bajo registro N° 000831.

Fuente: Vitola-R y Hernández-G.

3.1.4 Flor de Amor. Los ejemplares recolectados en los municipios de Sincelejo y La Unión corresponden a la especie *Cananga odorata* (Lam.) Hook. f. & Thomson la cual hace parte de la familia Annonaceae (Figura 7).

Figura 7. *Cananga odorata* (Lam.) Hook. f. & Thomson recolectada en el municipio de La Unión montada para la colección del Herbario de la Universidad de Sucre bajo registro N° 000832.

Fuente: Vitola-R y Hernández-G.

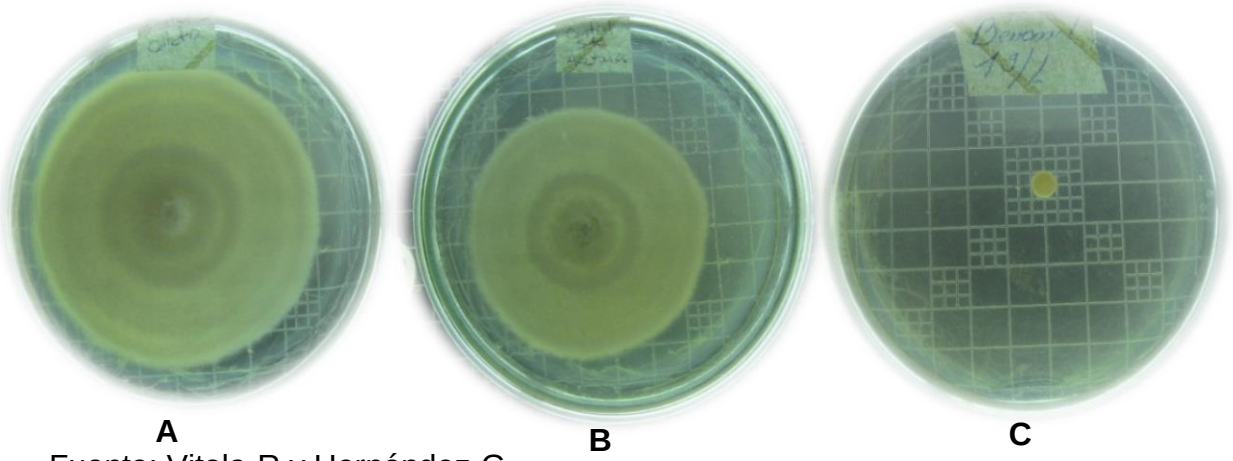
3.2 EVALUACIÓN *in vitro* DE LA ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA DE LOS ACEITES ESENCIALES

Una vez realizado un preliminar de sensibilidad se comprobó actividad fungicida de los aceites totales. Los resultados de la prueba *in vitro* de actividad antifúngica de *C. gloeosporioides* se comparó con la actividad contra *P. cinnamomi*. Los resultados de actividad de los diferentes aceites esenciales obtenidos mostró actividad antifúngica positiva para *C. gloeosporioides.* Para comparar la actividad antifúngica de los tratamientos, se utilizó un control negativo el solvente con acetona, el control positivo con benomil (1g/L) y un testigo absoluto del hongo en crecimiento en medio PDA sin ningún tratamiento.

En la figura 8A observamos las características culturales del control absoluto con *Colletotrichum gloeosporioides* causante de la antracnosis en cultivos de ñame. Además se observa la actividad antifúngica del control negativo con acetona utilizado contra *C. gloeosporioides* (Figura 8B)*,* los resultados muestran que este compuesto tuvo un porcentaje de índice antifúngico contra este fitopatógeno de 2,23%, con respecto a los otros tratamientos evaluados.

La actividad antifúngica de los diferentes tratamientos fue comparados con el efecto que produce el control positivo (benomil a concentración de 1g/L) contra *C. gloeosporioides,* como se observa en la figura 8C este control tuvo un índice de inhibición de %I.A=100,00%. El benomil es el fungicida que tradicionalmente utilizan los cultivadores de ñame para el manejo de la enfermedad de la antracnosis en campo.

Figura 8. A. Características culturales del aislado *Colletotrichum gloeosporioides*; B. Control negativo con acetona; C. Control positivo con benomil (1g/L).



Fuente: Vitola-R y Hernández-G.

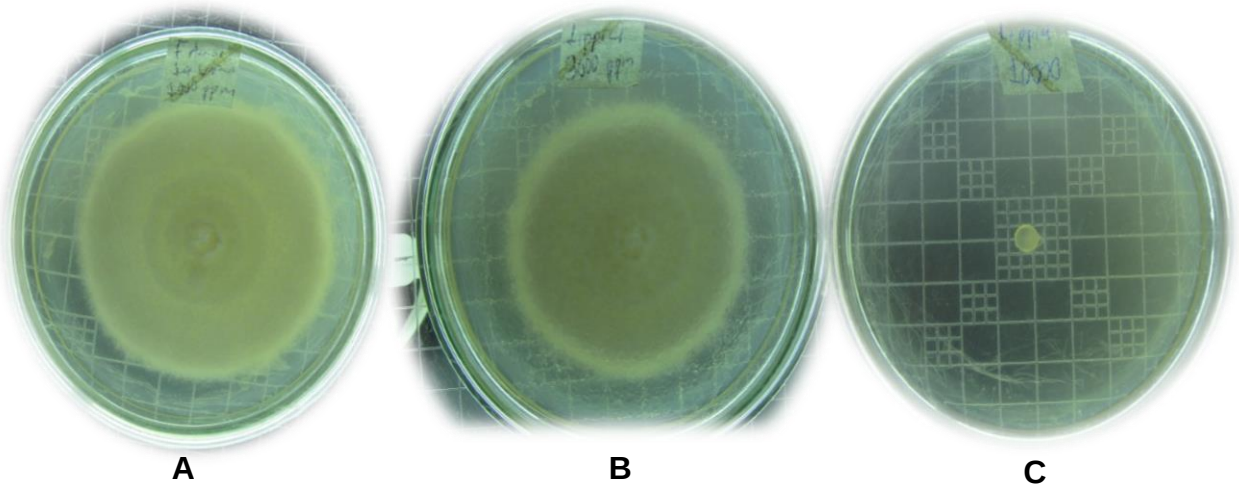
Al momento de realizar el análisis estadístico donde se comparaba el control positivo con cada una de las concentraciones de cada aceite, se realizó el test de Shapiro-Wilk de normalidad de los datos. En cada prueba se encontró que los datos no tenían una

distribución normal, por tanto se optó por normalizar los datos aplicándoles logaritmo natural (Ln).

3.2.1 Aceite esencial de Lippia de Sincelejo. Se evaluaron tres (3) concentraciones (1.000, 3.000 y 10.000 ppm). En la concentración de 10.000 ppm se encontró el mayor índice de inhibición con 97,77% seguido por la concentración de 3.000 ppm con un %I.A de 18,12% y luego la concentración de 1.000 ppm con un %I.A de 8,50%. Al comparar la concentración de 10.000 ppm se pudo evidenciar que presentó efectos similares con la actividad del control positivo Benomil (100,00%) contra *C. gloeosporioides*. Por lo tanto la concentración mínima inhibitoria del aceite esencial de esta especie vegetal contra *C. gloeosporioides* se encuentra entre 3.000 ppm y 10.000 ppm.

En la figura 9 se observa los resultados de la actividad antifúngica contra *C. gloeosporioides* del aceite esencial de Lippia cosechada en la ciudad de Sincelejo a las diferentes concentraciones.

Figura 9. Resultados de la prueba *in vitro* de la actividad antifúngica del aceite esencial de Lippia a concentraciones de: A. 1.000 ppm; B. 3.000 ppm; C. 10.000 ppm.



Fuente: Vitola-R y Hernández-G.

3.2.1.1 Análisis estadístico. Una vez normalizados los datos aplicando Ln, se procedió a realizar un análisis de varianza (Tabla 1) donde se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos ensayados. Los resultados de la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk arrojó un p-value=0,1923, lo que indica que los datos se distribuyen normal.

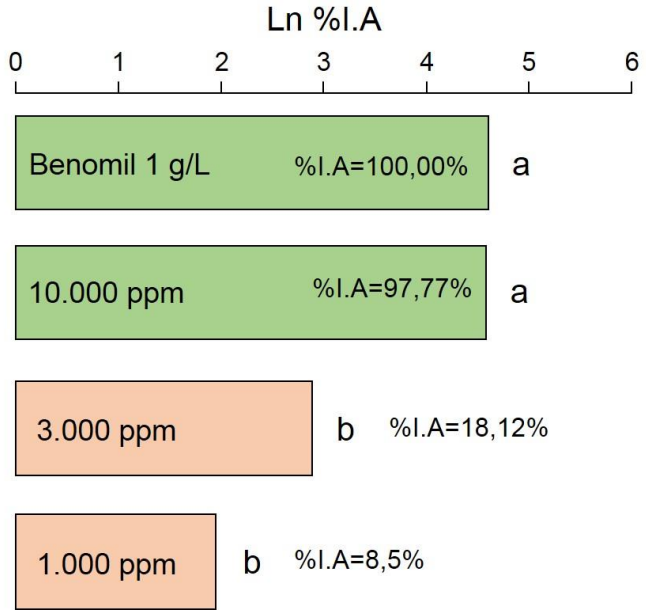
Tabla 1. Resultados de análisis de varianza para los diferentes tratamientos evaluados de aceite esencial de Lippia cosechada en la ciudad de Sincelejo.

	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	Valor F	p-value
Tratamientos	2	10,6516	5,3258	24,425	0,001309
Residuales	6	1,3083	0,2180		

Fuente: Vitola-R y Hernández-G.

En el gráfico 1 se muestra los resultados de la prueba de Tukey, la cual arroja que la concentración a 10.000 ppm de aceite esencial de Lippia cosechada en la ciudad de Sincelejo mostró mayor actividad antifúngica representada en un %I.A de 97,77%, actividad esta similar al efecto que produce el control positivo con Benomil 1g/L (%I.A de 100,00%,), mientras que concentraciones de 3.000 ppm y 1.000 ppm se encontró actividad antifúngica menores con respecto a 10.000 ppm y el control positivo.

Gráfico 1. Resultados de la Prueba de Tukey para la comparación entre los tratamientos de aceite esencial de Lippia. Tratamientos con igual letra no tienen diferencias significativas (α=0,05).



Fuente: Vitola-R y Hernández-G.

3.2.1.2 Análisis químico. El metabolito secundario mayoritario presente en el aceite esencial de esta especie vegetal correspondió a Citral a concentración entre 34,62% a 40,03%, de igual manera Mesa-Arango *et al.* (2009) encontraron el citral a concentraciones entre 23,6% neral y 30,5% Geranial. Shukla, Kumar, Singh & Dubey (2009) encontraron el citral a concentración de 36,40%; López, Stashenko & Fuentes

(2011) elucidaron el citral a concentración entre 33% geranial y 25% neral. Otros estudios realizados por este último autor reporto como compuestos mayoritarios a Limoneno a concentración de 32,10% y 1-8-Cineole a 34,90%. Asimismo Stashenko, Jaramillo & Martínez (2004) encontraron como compuesto mayoritario el Carvona a concentraciones entre 40% y 57%.

Adicional a lo anterior, el compuesto de Limoneno se encontró en el perfil cromatográfico realizado sobre el aceite esencial de esta especie vegetal pero en concentración de 1,07%, mientas que el 1-8-Cineole y Carvona no fueron elucidados, en su lugar se encontraron otros metabolitos minoritarios como el Linalool, Citronelal, Geranil, Nerol Cariofileno, Guaieno, Ácido Oleico, Ácido Palmitoleico, entre otros.

Investigaciones llevadas a cabo sobre *Lippia alba* han permitido evidenciar numerosas propiedades medicinales como antioxidante, antimicrobiana, así como propiedades protectoras contra agentes genotóxicos (Vera, Olivero, Jaramillo & Stashenko, 2010).

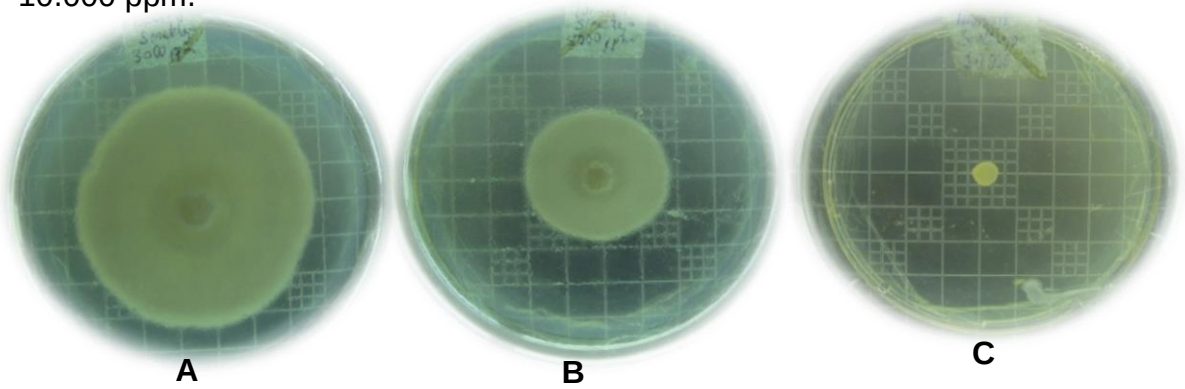
3.2.2 Aceites esenciales de Albahaca. Los aceites esenciales evaluados se obtuvieron de la especie vegetal de Albahaca cosechadas en los municipios de Sincelejo, La Unión y Sampués del departamento de Sucre.

3.2.2.1 Aceite esencial de Albahaca de Sincelejo. Con el aceite esencial natural de Albahaca cosechado en la ciudad de Sincelejo se evaluaron tres concentraciones: 3.000 ppm, 5.000 ppm y 10.000 ppm. De las 3 concentraciones evaluadas a 10.000 ppm, se obtuvo una actividad inhibitoria contra el hongo de 97,77 % (%I.A de 97,77%), efecto similar al encontrado para el control positivo con benomil (%I.A de 100,00%),). Las actividades antifúngica menores encontradas correspondieron a concentración de 5.000 ppm con un %I.A de 34,05% y 3.000 ppm con un %I.A de 15,84%. Estos resultados indican que a concentraciones de 10.000 ppm de este aceite esencial se encontraron las mayores inhibiciones del crecimiento *in vitro* contra *C. gloeosporioides.*

En la figura 10 se observa los resultados obtenidos de la actividad antifúngica *in vitro* de diferentes concentraciones de aceites esenciales de Albahaca de Sincelejo contra *C. gloeosporioides.*

3.2.2.2 Aceite esencial de Albahaca de La Unión. Al igual que el aceite de Albahaca-Sincelejo, se evaluaron las mismas concentraciones, encontrándose mayor efecto inhibitorio para concentraciones de 10.000 ppm con un %I.A de 97,77%, seguido de la concentración de 5.000 ppm con un %I.A de 23% y por último la concentración de 3.000 ppm quien presentó un %I.A de 14,68%. Los resultados obtenidos de la actividad antifúngica para 10.000 ppm, se asemejan a los efecto producidos por el control positivo con benomil quien mostro un %I.A de 100,00% contra *C. gloeosporioides.*

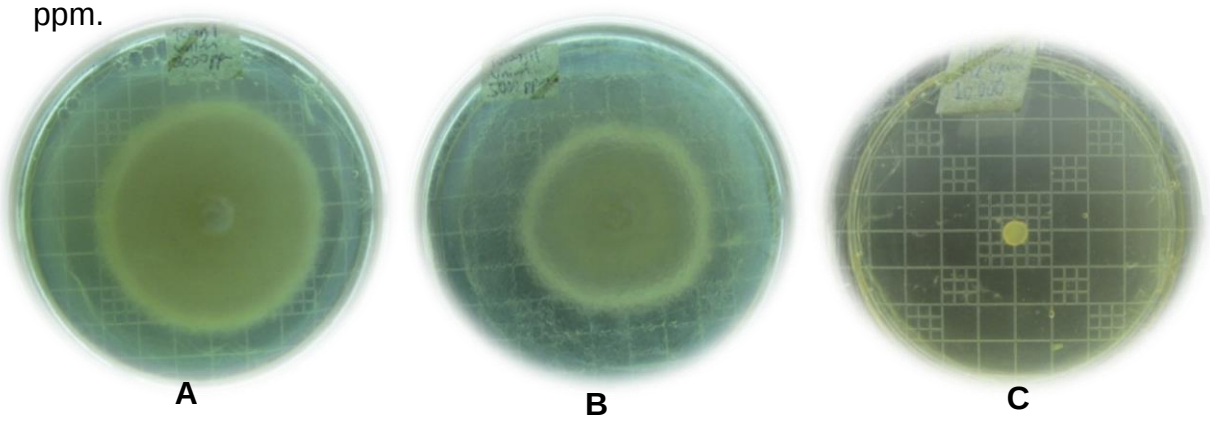
Figura 10. Resultados de la actividad antifúngica *in vitro* del aceite esencial de Albahaca - Sincelejo a diferentes concentraciones de: A. 3.000 ppm; B. 5.000 ppm; C. 10.000 ppm.



Fuente: Vitola-R y Hernández-G.

En la figura 11 se observa los resultados de la actividad antifúngica contra *C. gloeosporioides* del aceite esencial de Albahaca cosechado en el municipio de La Unión-Sucre en las diferentes concentraciones preparadas, mostrando disminución del diámetro del micelio causado por el efecto del aceite esencial.

Figura 11. Resultados de la actividad antifúngica *in vitro* del aceite esencial de Albahaca de La Unión a concentraciones de: A. 3.000 ppm; B. 5.000 ppm; C. 10.000 ppm.



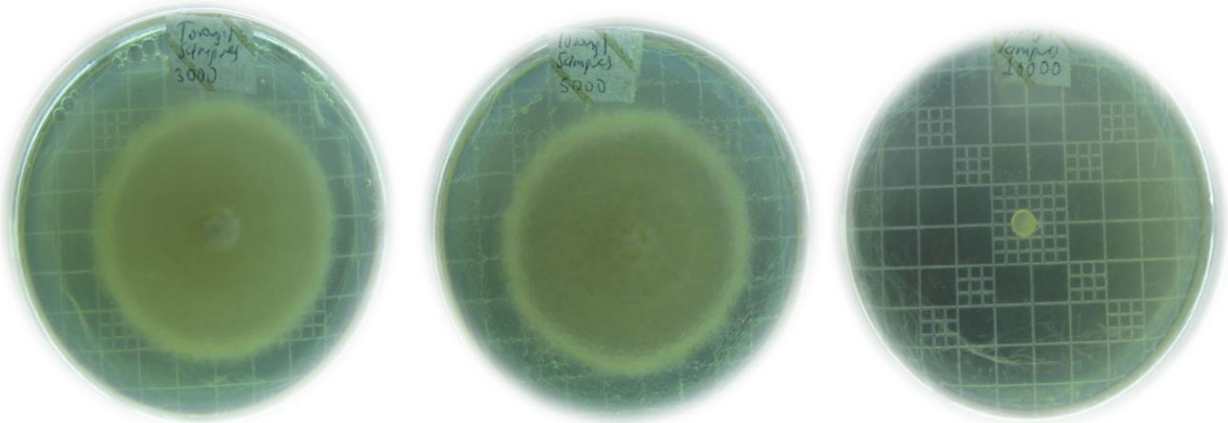
Fuente: Vitola-R y Hernández-G.

3.2.2.3 Aceite esencial de Albahaca de Sampués. El aceite esencial de Albahaca cosechado en el municipio de Sampués-Sucre mostró su máxima actividad antifúngica a concentración de 10.000 ppm con un %I.A de 97,77%. Igual comportamiento observado en los aceites esenciales de Albahaca de La Unión y Albahaca Sincelejo a esta misma concentración. A concentración de 5.000 ppm el %I.A fue de 18,10%, mientras que a 3.000 ppm el %I.A fue de 18,49%, demostrándose de esta manera que

la concentración mínima inhibitoria del aceite esencial de esta especie vegetal contra *C. gloeosporioides* se encuentra entre 5.000 ppm y 10.000 ppm.

En la figura 12 se observa los resultados de la actividad antifúngica contra el fitopatógeno *C. gloeosporioides* del aceite esencial de Albahaca cosechado en el municipio de Sampués-Sucre a las diferentes concentraciones, mostrando disminución del diámetro de crecimiento del micelio del hongo causado por el efecto del aceite esencial de esta especie vegetal.

Figura 12. Resultados de la actividad antifúngica *in vitro* del aceite esencial de Albahaca de Sampués a concentraciones de: A. 3.000 ppm; B. 5.000 ppm; C. 10.000 ppm.



A **B** **C**

Fuente: Vitola-R y Hernández-G.

3.2.2.4 Análisis estadístico. Con los datos normalizados aplicando Ln, se procedió a realizar un ANOVA (Tabla 2) donde se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos de aceite esencial de Albahaca cosechados en los municipios de Sincelejo, La Unión y Sampués. La prueba de normalidad de Shapiro-Wilk arrojó un p-value=0,1636, lo que demuestra que los datos presentan distribución normal.

Tabla 2. Resultados del análisis de varianza de los diferentes tratamientos de aceite esencial de Albahaca cosechados en los municipios de Sincelejo, La Unión y Sampués.

	Grados de libertad	**Suma de cuadrados**	**Cuadrado medio**	**F value**	**p-value**
Tratamientos	9	17,0261	1,89179	9,2086	2,139e-05
Residuales	20	4,1087	0,20544		

Fuente: Vitola-R y Hernández-G.

En el gráfico 2 se muestra los resultados obtenidos de la prueba de Tukey, la cual arroja que a concentración de 10.000 ppm de aceite esencial de Albahaca cosechados en los municipios de Sincelejo, La Unión y Sampués mostraron la mayor actividad antifúngica de 97,77 %, efecto similar a mostrado por el control positivo (Benomil a concentración de 1g/L), la segunda actividad inhibitoria se encontró para Albahaca colectado en Sincelejo a concentraciones de 5.000 ppm (%I.A de 34,05%,). Las menores actividades inhibitorias se encontraron con los con las concentraciones de 1.000 ppm en los tres municipios colectados. Con respectos a las concentraciones 3.000 y 5.000 ppm de los aceites esenciales obtenidos de plantas de Albahaca en los tres municipios del departamento de Sucre evaluados, presentaron índices de actividad inhibitoria similares entre ellos y menores a los valores obtenidos para la concentración de 5.000 ppm.

Todo lo anterior, demuestra que los aceites esenciales obtenidos de Albahaca cosechado en los tres municipios mencionados anteriormente presentan actividad antifúngica muy similar contra *C. gloeosporioides* y estadísticamente estos aceites esenciales de Albahaca de cada municipio estudiado no presentan diferencias en su actividad antifúngica contra este fitopatógeno.

3.2.2.5 Análisis químico. El aceite esencial de Albahaca de Sincelejo y La Unión presentaron el compuesto de Eremofileno, mientras que el aceite esencial de Sampués presentó al isómero el Guaieno.

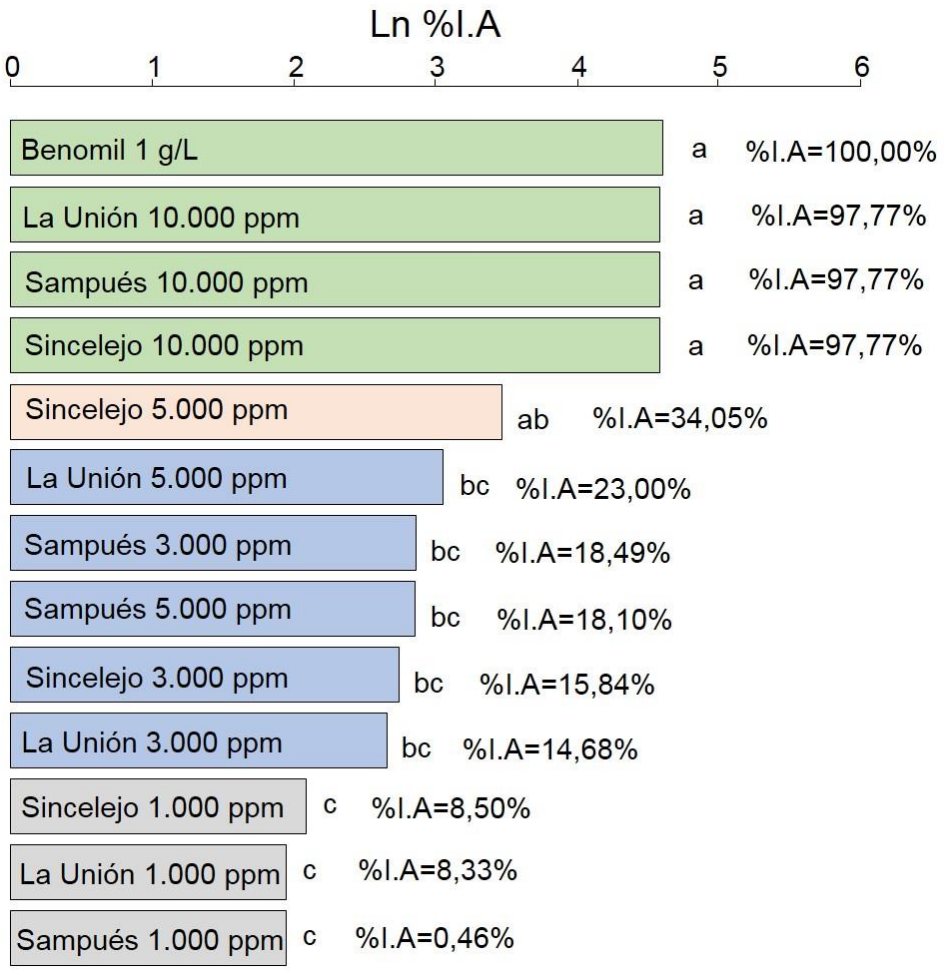
Además, el aceite esencial de Albahaca de Sincelejo contiene el compuesto Hidicariol, β-Cubebeno y γ-Cadineno, mientas que el aceite esencial de La Unión no presentó ninguno de estos metabolitos y el de Sampués solo contiene Hidicariol. En adición, el aceite esencial de La Unión contiene Aromadendreno y, el de Sincelejo y Sampués no lo presentan.

El metabolito secundario mayoritario de los aceites esenciales de Albahaca de Sincelejo, La Unión y Sampúes es el Eugenol a concentraciones de 75,44%, 45,15% y 80,28% respectivamente. A este principio activo le han reportado propiedades farmacológicas importantes como la de presentar actividad antimicrobiana, antiagregante y antipirética (Laekeman *et al.*, 1990), antianafiláctica porque pueden inhibir la degranulación de las células cebadas que provocan hipersensibilidad (Kim *et al.*, 1997). Lo cual concuerda con los resultados reportados en este proyecto puesto que presenta actividad antimicrobiana contra *C. gloeosporioides* a concentraciones de 10.000 ppm. A pesar, que el aceite esencial de Sampués fue el que presentó mayor concentración de este alilbenceno con 80,28% presentó el menor %I.A de 20,33% a concentración de 5.000 ppm, lo que demuestra que la concentración antifúngica óptima de este metabolito secundario contenido en el aceite esencial de esta especie vegetal

contra *C. gloeosporioides* oscila alrededor del 75,00%. Aunque, los tres aceites esenciales demostraron actividad fungicida total a concentración de 10.000 ppm.

Sin embargo, al realizar comparaciones de perfiles cromatográficos hechos sobre el aceites esencial de *Ocimum basilicum* se encontró que presentaba como metabolito secundario mayoritario el eugenol a concentración de 61,76% (Dev, Das, Hossain & Rahman, 2011), linnalol a una concentración de 56,70–60,60% (Hussain, Anwar, Hussain & Przybylski, 2008), metil eugenol con un 78,02% (Özcan & Chalchat, 2002), y linalool con un 69% (Kéita, S., Vincent, C., Schmit, J.P., & Bélanger, A., 2000) y linalool a 44,18% (Ismail, 2006).

Gráfico 2. Resultados de la Prueba de Tukey para la comparación entre los tratamientos de aceite esencial de Albahaca cosechados en los municipios de Sincelejo, La Unión y Sampués, todo en el departamento de Sucre. Tratamientos con igual letra no tienen diferencias significativas (α=0,05).



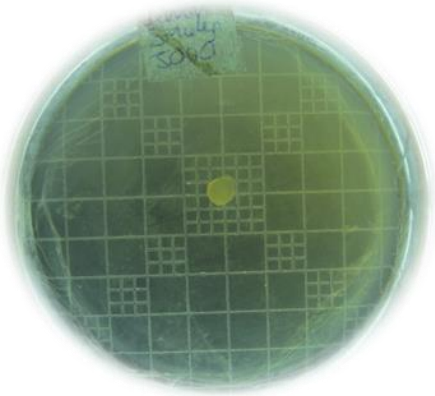
Fuente: Vitola-R y Hernández-G.

3.2.3 Aceites esenciales de limoncillos. Los aceites esenciales evaluados se obtuvieron de Albahaca cosechadas en el departamento de Sucre en los municipios de Sincelejo, La Unión y Sampués.

3.2.3.1 Aceite esencial de limoncillo Sincelejo Con estos aceites de limoncillo se trabajó con una concentración mínima de 5.000 ppm. Para el caso del limoncillo cosechado en la ciudad de Sincelejo, se encontró la mayor actividad inhibitoria (%I.A de 97,77%) a concentración de 5.000 ppm, por lo tanto, la concentración mínima inhibitoria del aceite esencial de esta especie vegetal contra *C. gloeosporioides* se encuentra entre 1 ppm y 5.000 ppm. Además, la concentración de aceite esencial de limoncillo de Sincelejo a 5.000 ppm evidenció eficiencia similar a la obtenida por el control positivo con Benomil 1g/L.

En la figura 13 se observa los resultados de la actividad antifúngica contra el fitopatógeno *C. gloeosporioides* del aceite esencial de limoncillo cosechado en la ciudad de Sincelejo a concentración de 5.000 ppm, mostrando inhibición total del fitopatógeno.

Figura 13. Resultados de la actividad antifúngica *in vitro* de aceite esencial de limoncillo de Sincelejo a concentración de 5.000 ppm.

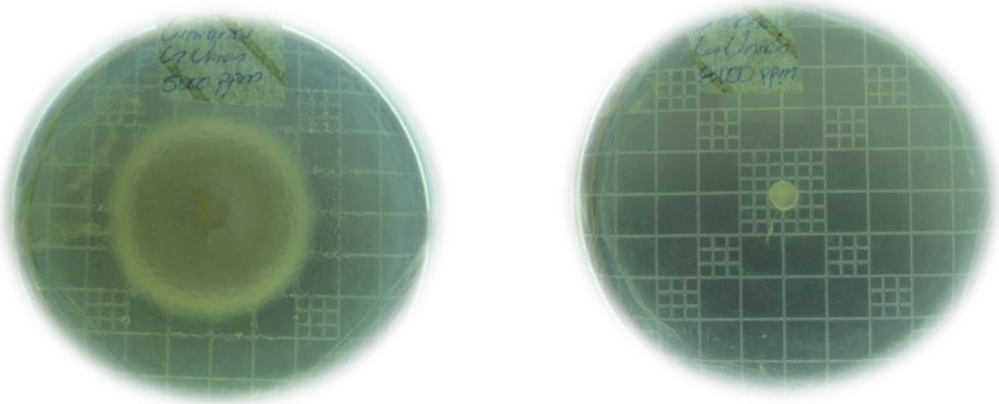


Fuente: Vitola-R y Hernández-G.

3.2.3.2 Aceite esencial de Limoncillo de La Unión. Para evaluar la actividad antifúngica de este aceite se prepararon concentraciones de 5.000 ppm, 8.000 ppm y 10.000 ppm. La concentración de 8.000 ppm fue la que presentó mayor eficiencia antifúngica con un %I.A de 97,77%, mientras que a 5.000 ppm el %I.A fue de 29,28%. Comparando las concentraciones con los resultados del control con Benomil (1g/L) se observa que la concentración de 8.000 ppm mostró similar eficiencia que dicho control. Por lo tanto, la concentración mínima inhibitoria del aceite esencial de esta especie vegetal contra *C. gloeosporioides* se encuentra entre 5.000 ppm y 8.000 ppm.

En la figura 14 se observa los resultados de la actividad antifúngica contra *C. gloeosporioides* del aceite esencial de limoncillo cosechado en el municipio de La Unión-Sucre a las diferentes concentraciones, mostrando inhibición total del fitopatógeno a 8.000 ppm.

Figura 14. Resultados de la actividad antifúngica *in vitro* de aceite esencial de limoncillo de La Unión a concentraciones de: A. 5.000 ppm, B. 8.000 ppm.



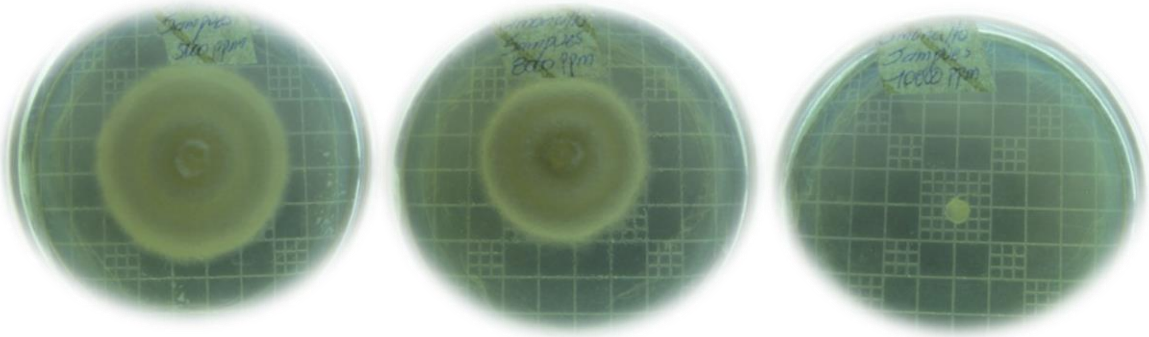
A **B**

Fuente: Vitola-R y Hernández-G.

3.2.3.4 Aceite esencial Limoncillo de Sampués. Para evaluar la actividad antifúngica de este aceite esencial se prepararon concentraciones de 5.000 ppm, 8.000 ppm y 10.000 ppm. Presentando la mayor actividad fungicida la concentración a 10.000 ppm con %I.A de 97,77%, seguido de la concentración de 8.000 ppm con un %I.A de 40,75% y por último 5.000 ppm con un %I.A de 24,80%. Al comparar estos resultados con el control positivo con Benomil a 1g/L se encontró que la concentración a 10.000 ppm presentó similar eficiencia que el control. Por lo tanto, la concentración mínima inhibitoria del aceite esencial de esta especie vegetal contra *C. gloeosporioides* se encuentra entre 8.000 ppm y 10.000 ppm.

En la figura 15 se observa los resultados de la actividad antifúngica contra *C. gloeosporioides* del aceite esencial de limoncillo cosechado en el municipio de Sampués-Sucre a las diferentes concentraciones, mostrando inhibición total del fitopatógeno a 10.000 ppm.

Figura 15. Resultados de la actividad antifúngica *in vitro* de aceite esencial de limoncillo de Sampués a concentraciones de: A. 5.000 ppm, B. 8.000 ppm; C. 10.000 ppm.



A **B** **C**

Fuente: Vitola-R y Hernández-G.

3.2.3.5 Análisis estadístico. El análisis de varianza muestra diferencias significativas entre los tratamientos de los limoncillos ensayados (Tabla 3). Los resultados de la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk arrojó un p-value=0,149, lo que indica que los datos se distribuyen normal y con la prueba de Tukey se observa que la concentración de 5.000 ppm de limoncillo cosechado en Sincelejo presentó la mayor eficiencia fungicida con un %I.A de 97,77%, similar a la mostrada por el control positivo con Benomil 1g/L (%I.A=100,00%,), seguido del limoncillo cosechado en Sampués a concentración de 8.000 ppm que mostro %I.A de 40,75% y por último las concentraciones de 5.000 ppm de La Unión y Sampués con %I.A de 29,78% y 24,80% respectivamente.

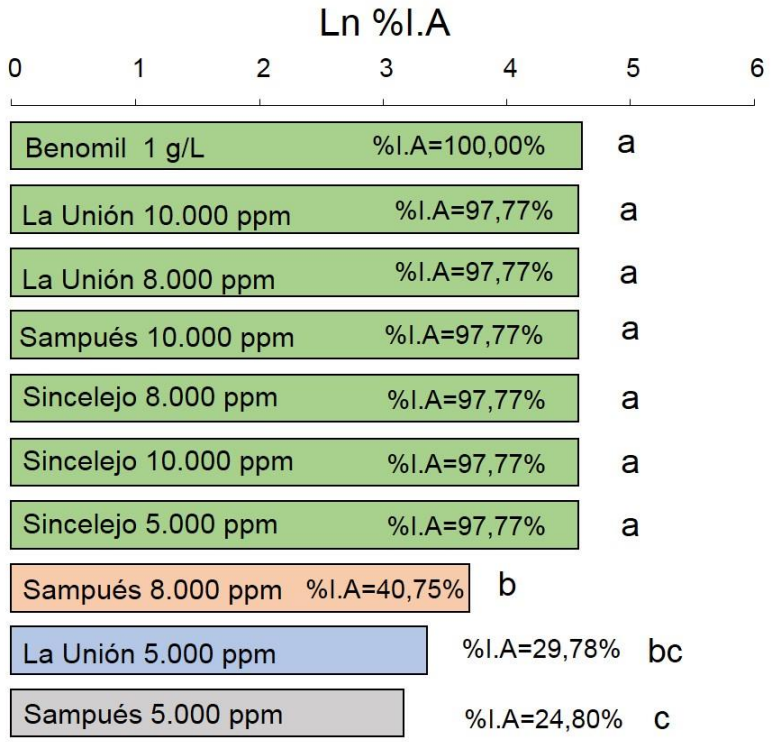
Tabla 3. Resultado del análisis de varianza de los tratamientos de aceite esencial de Lippia cosechada en la ciudad de Sincelejo.

	Grados de libertad	**Suma de cuadrados**	**Cuadrados medios**	**Valor F**	**p-value**
Tratamientos	3	3,4990	1,16632	21,151	0,0003689
Residuales	8	0,4411	0,05514		

Fuente: Vitola-R y Hernández-G.

En el gráfico 3 se muestra la prueba de Tukey, la cual arroja que el aceite esencial de limoncillo cosechado en La Unión a concentración de 8.000 ppm, limoncillo de Sampués a 10.000 ppm y limoncillo de Sincelejo a 5.000 ppm presentan la mayor eficiencia fungicida con un %I.A de 97,77% similar al efecto causado por el control positivo con Benomil a 1g/L.

Gráfico 3. Resultados de la Prueba de Tukey para la comparación entre los tratamientos de aceite esencial de limoncillo cosechados en los municipios de Sincelejo, La Unión y Sampués. Tratamientos con igual letra no tienen diferencias significativas (α=0,05).



Fuente: Vitola-R y Hernández-G.

3.2.3.6 Análisis químico. El constituyente químico principal presente en el aceite esencial de limoncillo es el Citral, lo cual se puede corroborar con el estudio realizado por Tajidin, Ahmad, Rosenani, Azimah & Munirah (2012) sobre *Cymbopogon citratus*, donde además Irfan, Ahmad, Jaykumar & Ahmad (2010) reportaron propiedades farmacológicas importantes como antimicrobiana contra *taphylococcus aureus, Bacillus cereus, Bacillus subtilis, Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae*. Así como usos en la industria cosmética y alimenticia. Pattnaik *et al.* (1996) han encontrado que el aceite esencial rico en citral presenta una fuerte actividad antimicrobiana.

El aceite esencial de limoncillo de Sincelejo, La Unión y Sampués presentaron como metabolito secundario mayoritario el Geranial, en concentraciones de 40,60%, 37,40% a 43,98% y 38,34% a 47,04% respectivamente. Mostrando además, un perfil cromatográfico muy similar, presentando casi los mismos metabolitos secundarios con pequeñas diferencias como la presencia de Spiro [5.5] undec-1-ene en el limoncillo de Sincelejo, mientas que en La Unión presentó Eucarvona y en Sampués 3-5-Heptadienal, 2-etilidene-6-metil- con tiempos de retenciones muy similares. En adición,

en estos dos últimos aceites esenciales se encontró el Cariofileno y en el primero no se encontró.

Algunos autores sostienen de que el Mirceno es una especie química característica en esta especie vegetal, no importando el origen de la misma, lo cual corroboramos con los resultados del perfil cromatográfico realizados sobre estos tres aceites esenciales de limoncillos, presentando el de La Unión el β-Mirceno y el de Sincelejo y Sampués su isómero el Ocimeno.

Sin embargo, al realizar comparaciones de perfiles cromatográficos hechos sobre el aceites esencial de *Cymbopogon citratus* se encontró que presentaba como metabolito secundario mayoritario el Geranial con una concentración entre 40,95% a 43,16% (Gómez, González, Linares, Darghan & Usubillaga, 2005), Geranial 41,30% (Sacchetti *et al.*, 2005), Geranial con 25,50% (Ríos, 2010) y Geranial con 46,3% (Rodríguez-Álvarez, M., Alcaráz-Meléndez, L., & Real-Cosío, S., 2012). A pesar que estos aceites presentaron constituyentes químicos similares el limoncillo de Sincelejo mostró mayor eficiencia antifúngica contra *C. gloeosporioides* con un %I.A de 97,77% a concentración de 5.000 ppm, en contraste, con el limoncillo de La Unión a la misma concentración el %I.A fue de 29,78% y el %I.A del limoncillo de Sampués fue de 24,80% presentando este último la menor eficiencia fungicida.

Diferentes estudios se han realizado con aceite esencial de *Cymbopogon citratus,* contra *C. gloeosporioides*. Palhano *et al*. (2004) hallaron que a las 750 ppm se lograba una inhibición del hongo, mientras que Duarte *et al*. (2010) encontraron una concentración mínima inhibitoria entre 250 y 300 ppm.

Otros trabajos se han hecho pero con otras especies de hongos del género *Colletotrichum.* Tzortzakis & Economakis (2007) usando aceite esencial de *C. citratus* retrasaron la esporulación y la longitud del tubo generativo de *C. coccodes.* Por otro lado, Alzate, Mier, Afanador, Durango & García, (2009) demostraron que entre 350 y 400 ppm se evita en un 100,00% la germinación de las esporas de *C. acutatum*.

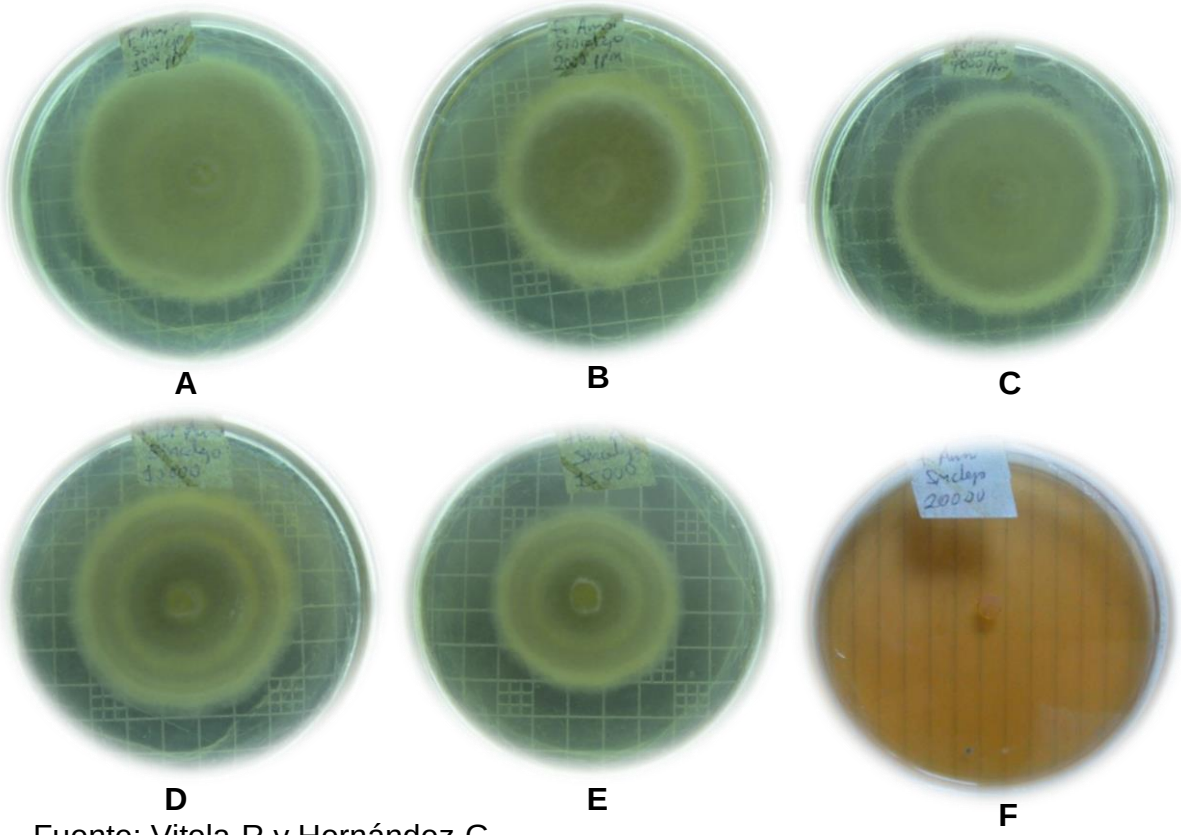
3.2.4 Aceite esencial de flor de amor. Este aceite esencial ensayado fue cosechado en la ciudad de Sincelejo y en el municipio de La Unión-Sucre.

3.2.4.1 Aceite esencial de Flor de Amor de Sincelejo. Se evaluaron 6 concentraciones 1.000 ppm, 2.000 ppm, 4.000 ppm, 10.000 ppm, 15.000 ppm y 20.000 ppm. A esta última concentración se encontró el mayor efecto fungicida contra *C. gloeosporioides* con un %I.A 97,77% el cual fue muy similar al resultado mostrado por el control positivo con Benomil 1g/L, seguido por la concentración de 10.000 ppm con %I.A de 53,70%, luego la concentración de 15.000 ppm con %I.A de 42,27%, 2.000 ppm con %I.A de 24,97%, 4.000 ppm con %I.A de 12,76% y por último la concentración de 1.000 ppm con %I.A de 4,18%.

Por lo tanto, la concentración mínima inhibitoria del aceite esencial de esta especie vegetal contra *C. gloeosporioides* se encuentra entre 15.000 ppm y 20.000 ppm.

En la figura 16 se observa los resultados de la actividad antifúngica contra *C. gloeosporioides* del aceite esencial de flor de amor cosechada en la ciudad de Sincelejo a las diferentes concentraciones ensayadas, mostrando inhibición total del fitopatógeno a 20.000 ppm.

Figura 16. Resultados de la actividad antifúngica *in vitro* de aceite esencial de flor de amor cosechada en Sincelejo a concentraciones de: A. 1.000 ppm, B. 2.000 ppm; C. 4.000 ppm. D. 10.000 ppm, E. 15.000 ppm, F. 20.000 ppm.



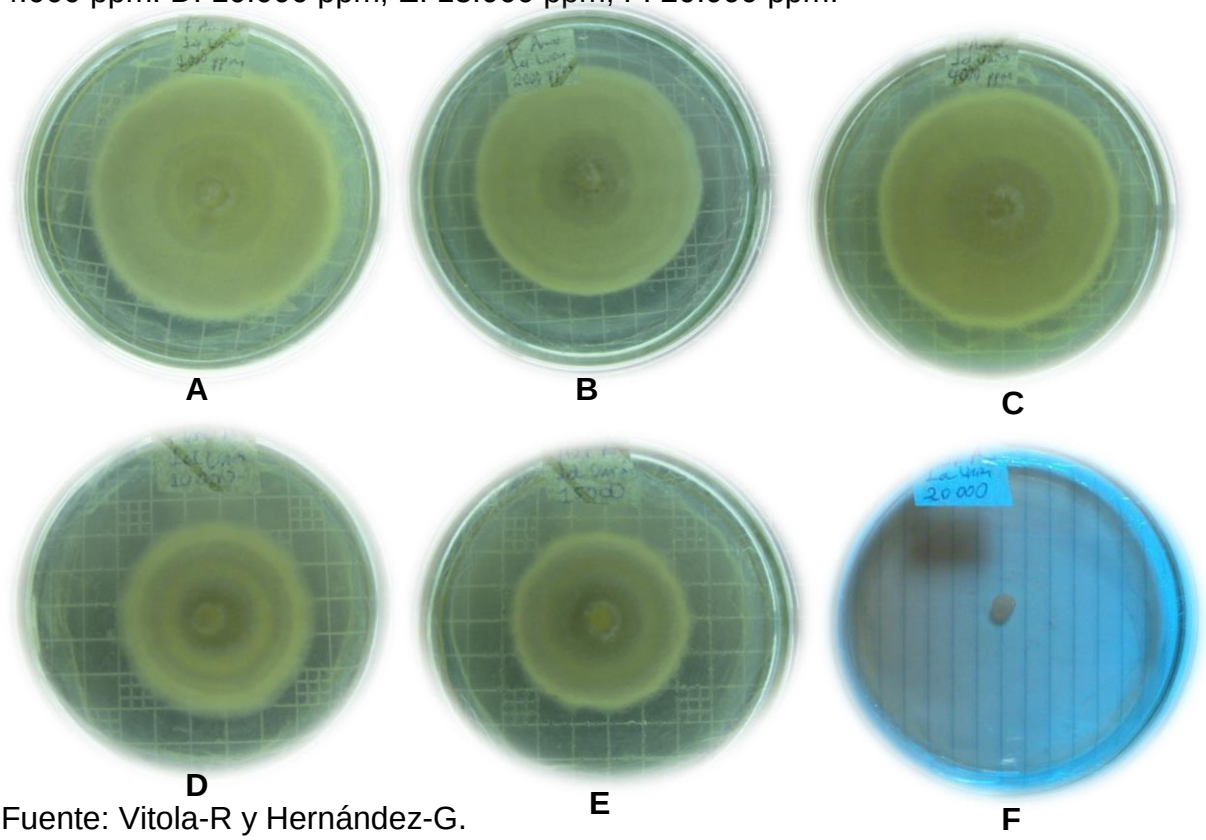
Fuente: Vitola-R y Hernández-G.

3.2.4.2 Aceite esencial de flor de amor de La Unión. Se prepararon las mismas concentraciones que flor de amor de Sincelejo. Este aceite esencial mostro efecto similar del presentado por flor de amor de Sincelejo, puesto que a concentración de 20.000 ppm se encontró el mayor efecto fungicida contra *C. gloeosporioides* con un %I.A 97,77% el cual fue muy similar al resultado mostrado por el control positivo con Benomil 1g/L, seguido por la concentración de 10.000 ppm con %I.A de 52,55%, luego la concentración de 15.000 ppm con %I.A de 42,27%, 4.000 ppm con %I.A de 18,92%, 2.000 ppm con %I.A de 9,81% y por último la concentración de 1.000 ppm con %I.A de 2,69%. Por lo tanto, la concentración mínima inhibitoria del aceite esencial de esta

especie vegetal contra *C. gloeosporioides* se encuentra entre 15.000 ppm y 20.000 ppm.

En la figura 17 se observa los resultados de la actividad antifúngica contra *C. gloeosporioides* del aceite esencial de flor de amor cosechada en el municipio de La Unión-Sucre a las diferentes concentraciones ensayadas, mostrando inhibición total del fitopatógeno a concentración de 20.000 ppm.

Figura 17. Resultados de la actividad antifúngica *in vitro* de aceite esencial de flor de amor cosechada en La Unión a concentraciones de: A. 1.000 ppm, B. 2.000 ppm; C. 4.000 ppm. D. 10.000 ppm, E. 15.000 ppm, F. 20.000 ppm.



Fuente: Vitola-R y Hernández-G.

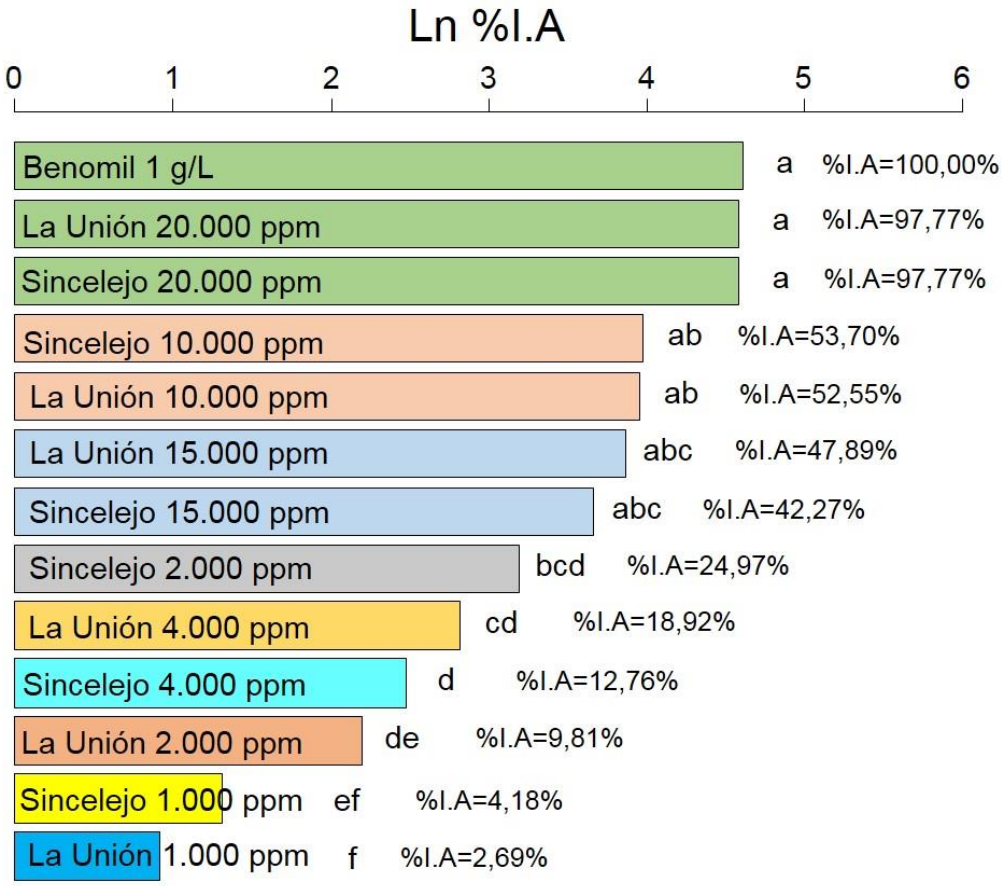
3.2.4.3 Análisis estadístico. El resultado del análisis de varianza arrojó diferencias significativas entre los tratamientos (Tabla 4). La prueba de normalidad mostró un p-value=0,0835, por lo tanto los datos presentan distribución normal y según la prueba de Tukey (Gráfico 4) las concentraciones a 20.000 ppm mostraron la mayor actividad antifúngica con un %I.A de 97,77%, efecto similar al causado por el control positivo con Benomil a 1g/L. además las concentraciones de 10.000 ppm mostraron mejor efectividad fungicida que las concentraciones a 15.000 ppm.

Tabla 4. Resultados del análisis de varianza de los tratamientos de aceite esencial de Flor de amor cosechada en los municipios de Sincelejo y La Unión.

	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F value	Pr(>F)
Tratamientos	9	38,782	4,3091	23,543	9,368e-09
Residuales	20	3,661	0,1830		

Fuente: Vitola-R y Hernández-G.

Gráfico 4. Resultados de la prueba de Tukey para la comparación entre los tratamientos de aceite esencial de Flor de amor. Tratamientos con igual letra no tienen diferencias significativas (α=0,05).



Fuente: Vitola-R y Hernández-G.

3.2.4.4 Análisis químico. Los aceites esenciales de flor de amor de los dos municipios colectados presentaron cantidades pequeñas de Eugenol. Sin embargo, la flor de amor de Sincelejo presentó como metabolito secundario mayoritario el Linalool a una concentraciones de 39,52%, mientras que el de La Unión presento el Benzoato de Bencilo a 26,76%.

El aceite esencial extraído de flor de amor de Sincelejo mostró mayor eficiencia antifúngica contra *C. gloeosporioides* a concentración de 15.000 ppm con un %I.A 42,91%, en contraste con flor de amor de La Unión que a la misma concentración mostró un %I.A de 35,70%. Esto se debe posiblemente a la alta concentración de Linalool presente en el aceite esencial de flor de amor de Sincelejo, puesto a que este metabolito se le han atribuido actividades farmacológicas como antileishmaniasis (Do Socorro *et al.*, 2003), actividad antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli* y *Candida albicans* (Tadtong *et al.*, 2012). A pesar, que el aceite esencial de La Unión no contiene Linalool en cantidades considerables, este aceite mostró actividad antifúngica posiblemente a la combinación de Acetato de Cinamilo, Isoeugenol, Geraniol, Benzoato de Bencilo y otros componentes minoritarios responsables de esta actividad (Bin Jantan, I., Karim, B., Santhanam, J., & Azdina, J., 2008).

3.2.5 Comparación entre los tratamientos de aceites esenciales más eficientes.

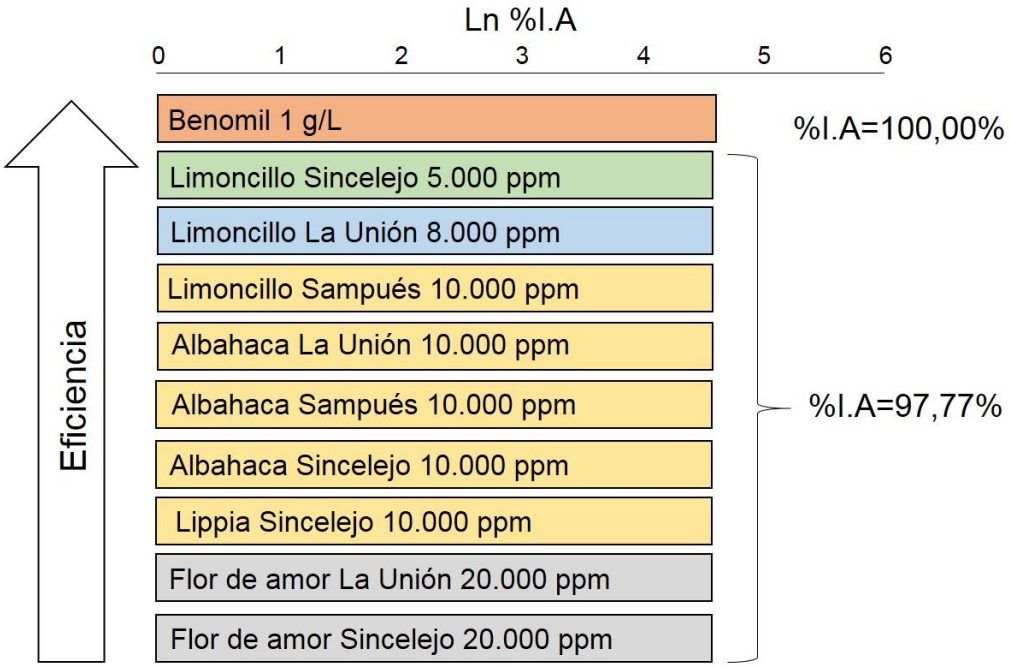
Todos los aceites esenciales naturales ensayados mostraron actividad antifúngica frente al hongo fitopatógeno *C. gloeosporioides* causante de la antracnosis en cultivos de interés agrícola, principalmente el ñame. En términos de concentración, actividad antifúngica y procedencia del material vegetal, el aceite esencial de limoncillo cosechado en la ciudad de Sincelejo mostró mayor eficiencia antifúngica puesto que la concentración a la cual causó el total de inhibición fue la más baja, a 5.000 ppm, en comparaciones con el limoncillo cosechado en el municipio de La Unión-Sucre, que presentó el mismo %I.A pero a concentración de 8.000 ppm, seguido del limoncillo cosechado en Sampués que presentó similar %I.A pero a 10.000 ppm.

Además, el Albahaca cosechado en los tres (3) municipios estudiados y lippia cosechada en Sincelejo presentaron el máximo %I.A pero a concentración de 10.000 ppm. Y por último la flor de amor cosechada en los municipios de Sincelejo y La Unión mostraron su máxima actividad pero a 20.000 ppm (Gráfico 5).

Con los resultados anteriores queda demostrado que estos metabolitos secundarios de origen naturales muestran actividad fungicida similar a la arrojada por el benomil, por lo tanto esto nos da a entender que estos bioactivos son una importante alternativa fitosanitaria sana y natural para contrarrestar los efectos tanto económicos como ambientales que acarrea el manejo de fitopatógenos como el hongo *Colletotrichum gloeosporioides*. Además, cabe mencionar que el benomil es un agrofúngico empleado por los agricultores para tratar la antracnosis provocada por *C. gloeosporioides*, y por ser de amplio espectro puede controlar otros tipos de enfermedades en un sin número de cultivos, pero a este compuesto químico se le ha demostrado que tiene efectos no

deseados sobre el medioambiente, sobre la salud de plantas, animales y humanos, puesto que su principal metabolito, el Carbendazim, puede adherirse fácilmente a los microtúbulos de las células e intervenir en funciones de división celular y transporte intracelulares (WHO, 1997). Otros efectos asociados incluyen toxicidad hepática, toxicidad para el desarrollo embrionario y efectos reproductivos, principalmente en los testículos (EPA, 2002).

Gráfico 5. Comparación entre los tratamientos de mayor eficiencia antifúngica, con respecto a la concentración y a la procedencia del vegetal.



Fuente: Vitola-R y Hernández-G.

3.3 DETERMINACIÓN DE QUIMIOTIPOS.

Con base en el análisis cromatográfico realizado a cada uno de los aceites esenciales se pudo determinar los Quimiotipos a los cuales corresponde cada especie estudiada (Tabla 5).

Tabla 5. Quimiotipos correspondientes a cada especie vegetal analizada y su respectiva concentración.

ESPECIES VEGETALES	QUIMIOTIPO	CONCENTRACIÓN (%)
Lippia de Sincelejo	Citral	34,62 - 40,03
Albahaca de Sincelejo	Eugenol	75,44
Albahaca de La Unión	Eugenol	45,15
Albahaca de Sampués	Eugenol	80,28
Limoncillo de Sincelejo	Geranial	40,60
Limoncillo de La Unión	Geranial	37,40 - 43,98
Limoncillo de Sampués	Geranial	38,34 - 47,04
Flor de amor de Sincelejo	Linalool	39,52
Flor de amor de La Unión	Benzoato de Bencilo	26,76

Fuente: Vitola-R y Hernández-G.

4. CONCLUSIONES

- Se pudo corroborar la identidad taxonómica de las 4 especies de vegetales utilizadas en este estudio: *Lippia alba* (P. Mill.) N. E. Br. ex Britt. & Wilson, *Cananga odorata* (Lam.) Hook.f. & Thomson, *Cymbopogon citratus* (DC. ex Nees) Stapf, y *Ocimum basilicum* L.

- Todos los aceites evaluados mostraron actividad actividad antifúngica con un máximo inhibición de *C. gloeosporioides* de %I.A= 97,77%. Aquellos aceites que lo lograron a las 5.000 ppm fue el limoncillo de Sincelejo, a 10.000 ppm fueron Limoncillo de Sampués; Lippia de Sincelejo; Albahaca de Sampués, La Unión y Sincelejo, y a las 20.000 ppm los de Flor de Amor de La Unión y Sincelejo.

- El aceite esencial que mostró mayor eficiencia antifúngica con respecto a la concentración utilizada fue el de Limoncillo de Sincelejo, ya que logró la inhibición total de *C. gloeosporioides* a las 5.000 ppm.

- El análisis cromatográfico realizado a los nueve aceites esenciales mostraron gran diversidad de especies químicas, entre los cuales se encuentran sustancias que se les ha comprobado actividad antifúngica.

- Se determinaron los quimiotipos para cada una de las plantas estudiadas. Lippia corresponde al quimiotipo Citral, Albahaca de Sincelejo, Sampués y La Unión al quimiotipo Eugenol, limoncillo de Sincelejo, Sampués y La Unión al quimiotipo Geranial, flor de amor de Sincelejo al quimiotipo Linalool y flor de amor de La Unión al quimiotipo Benzoato de Bencilo.

5. RECOMENDACIONES

- Identificar las concentraciones mínimas inhibitorias (CMI) de cada uno de los aceites estudiados, partiendo de las concentraciones donde se logró inhibición total de *C. gloeosporioides*.

- Realizar pruebas de actividad antifúngica mezclando los diferentes aceites a diferentes proporciones.

- Separar los componentes presentes en cada uno de los aceites esenciales estudiados y corroborar el efecto fungicida contra *C. gloeosporioides*.

- Evaluar la eficiencia de los aceites esenciales mediante pruebas *ex vitro* (tanto en campo como en invernadero con condiciones controladas).

- Utilizar los aceites esenciales para estudiar su efectividad contra otros hongos y bacterias que afectan de manera negativa cultivos de interés agrícola.

BIBLIOGRAFÍA

Afanador-Kafuri, L.; Minz, D.; Maymond, M., & Freeman, S. (2003). Characterization of *Colletotrichum* isolates from Tamarillo, Passiflora, y Mango in Colombia and identification of a unique species of the genus. *The American Phytopathological Society, 93*(5), pp. 579-587.

Agrios, G.N. (2002). *Fitopatología.* Mexico, D.F.: Editorial Limusa S.A.

Álvarez, E., Ospina, C., Mejía, F., & Llano, G. (2004). Caracterizacion morfológica, patogénica y genética del agente causal de la antracnosis (*Colletotrichum gloesporioides*) en guanábana (*Annona muricata*) en el Valle del Cauca. *Fitopatología Colombiana, 28*(1), pp. 1-8.

Alzate, D., Mier, G., Afanador, L., Durango, D., & García, C. (2009). Evaluación de la Fitotoxicidad y la Actividad Antifúngica contra *Colletotrichum acutatum* de los Aceites Esenciales de Tomillo (*Thymus vulgaris*), Limoncillo (*Cymbopogon citratus*), y sus Componentes Mayoritarios. *Vitae, 16*(1), pp. 116-125.

Bailey, J.A., & Jeger, M.J. (1992). *Colletotrichum*: *Biology*, *Pathology and Control*. Wallingford, UK: CAB International.

Bakkalli, F., Averbeck, S., Averbeck, D., & Idaomar, M. (2008). Biological Effects of Essential Oils--a Review. *Food Chem Toxicol*, *46*(2), pp. 446-75.

Barnett, H.L., & Hunter, B.B. (1998). *Ilustrated genera of imperfect fungi.* Minesota: APS Press.

Benini, C., Danflous, J.P., Wathelet, J.P., du Jardin, P., & Fauconnier, M.L. (2010). Ylang-ylang [*Cananga odorata* (Lam.) Hook. f. & Thomson]: An unknown essential oil plant in an endangered sector. *Biotechnologie Agronomie Société et Environnement, 14*. pp. 693-705.

Betts, T.J. (2001). Chemical characterization of the different types of volatile oil constituents by various solute retention ratios with the use of conventional and novel commercial gas chromatographic stationary phases. *Journal of Cromatography A, 936*(1), pp. 33-46.

Beyra, A., León, M.C., Iglesias, E., Ferrándiz, D., Herrera, R., Volpato, G.,… Álvarez, R. (2004). Estudios etnobotánicos sobre plantas medicinales en la provincia de Camagüey (Cuba). *Anales Jardín Botánico de Madrid, 61*(2), pp. 185-204.

Bin Jantan, I., Karim, B., Santhanam, J., & Azdina, J. (2008). Correlation Between Chemical Composition and Antifungal Activity of the Essential Oils of Eight *Cinnamomum* Species. *Pharmaceutical Biology, 46*(6). pp. 406-412.

Brokl, M., Fauconnier, M.L., Benini, C., Lognay, G., du Jardin, P., & Focant, J.F. (2013). Improvement of Ylang-Ylang Essential Oil Characterization by GC×GC-TOFMS. *Molecules*, *18*, pp. 1783-1797.

Centis, S., Guillas, I., Séjalon, N., Esquerré, M., & Dumas, B. (1997). Endopolygalacturonase Genes from *Colletotrichum lindemuthianum*: Cloning of CLPG2 and Comparison of Its Expression to That of CLPG1 During Saprophytic and Parasitic Growth of the Fungus. *Molecular Plant-Microbe Interactions, 10*(6), pp. 769-775.

Centro Nacional de Información Biotecnológica (NCBI). (2014). Rockville Pike, Bethesda MD, USA. Recuperado de: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?mode=Info&id=1314770&lvl=3&lin=f&keep=1&srchmode=1&unlock.

Cerón, L., Higuera, B., Sánchez, J., Bustamante, S., & Buitrago, G. (2006). Crecimiento y desarrollo de *Colletotrichum gloeosporioides* f. *alatae* durante su cultivo en medios líquidos. *Acta Biológica Colombiana, 11*(1), pp. 99-109.

Colección Científica en Línea del Herbario de la Universidad Nacional de Colombia. (2014). Bogotá D.C., Colombia. Recuperado de: http://www.biovirtual.unal.edu.co/ICN/.

Da Silva, C.F., & Michereff, S.J. (2013). Biology of *Colletotrichum* sp. and epidemiology of the anthracnose in tropical fruit trees. *Caatinga, 26*(4), pp. 130-138.

DANE, & Banco de la República. (2012). Informe de Coyuntura Económica Regional Departamento de Sucre.

De Los Santos-Villalobos, S., de-Folter, S., Délano, J.P., Gómez, M., Asunción, D., Sánchez, P.,… Peña, J. (2011). Puntos críticos en el manejo integral de mango: floración, antracnosis y residuos industriales. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas, 2*(2), pp. 221-234.

Dev, N., Das, A. K., Hossain, M. A., & Rahman, S. M. M. (2011). Chemical compositions of different extracts of Ocimum basillicum leaves. *Journal of Scientific Research*, *3*(1), 197-206.

Do Socorro, M., Mendonça, R., Bizzo, H., de Almeida, I., Soares, R., Souto-Padrón, T.,… Lopes, A. (2003). Antileishmanial activity of a linalool-rich essential oil from *Croton cajucara*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 47*(6), pp. 1895-1901.

Duarte, N., Schmidt, F., Teixeira, M., Figueira, G., Delarmelina, C., Aparecida, E.,… Sartoratto, A. (2010). Control of *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Sacc. In yellow passion fruit using *Cymbopogon citratus* essential oil. *Brazilian Journal of Microbiology, 41*(1), pp. 66-73.

Environmental Protection Agency. (2002). Prevention, Pesticides and Toxic Substances. United States. Reregistration Eligibility Decision (RED). Benomyl.

Flaishman, M.A., & Kolattukudy, P.E. (1994). Timing of fungal invasion using host's ripening hormone as a signal. *Proc. Nati. Acad. Sci,91*, pp. 6579-6583.

Gomes, S.R., Osama, F.A., & Massola, N.S. (2013). Histopathology of Colletotrichum gloeosporioides on guava fruits (Psidium guajava L.). *Revista Brasileira de Fruticultura*, *35*(2), 657–664.

Gómez, E., González, N., Linares, S., Darghan, E., & Usubillaga, A. (2005). Efecto de la fertilización, densidad de siembra y tiempo de corte sobre el rendimiento y calidad del aceite esencial extraido de Cymbopogon citratus Stapf. *Revista de La Facultad de Agronomía de La Universidad Del Zulia*, *22*(3), pp. 250-263.

Granados, C., Yáñez, X., & Santafé, G. (2012). Evaluaciòn de la actividad antioxidante del aceite esencial foliar de *Calycolpus moritzianus* y *Minthostachys mollis* de Norte de Santander. *Bistua, 10*(1), pp. 12-23.

Grayer, R.J., Kite, G.C., Goldstone, F.J., Bryan, S.E., Paton, A., & Putievsky, E. (1996). Infraspecific taxonomy and essential oil chemotypes in sweet basil, *Ocimum basilicum*. *Phytochemistry, 43*(5), pp. 1033-1039.

Green, K.R., Abang, M.M., & Lloba, C. (2000). A rapid Bioassay for Screening Yam Germplasm for Response to Anthracnose. *Tropical Science, 40,* pp.132-138.

Guerra, M., Rodríguez, M., García, G., & Llerena, C. (2004). Actividad antimicrobiana del aceite esencial y crema de *Cymbopogon citratus* (DC). Stapf. *Rev Cubana Plant Med, 9*(2). pp. 1-6.

Guo, Z., Xing, R., Liu, S., Zhong, Z., Ji, X., Wang, L., & Li, P. (2008). The influence of molecular weight of quaternized chitosan on antifungal activity. *Carbohydrate Polymers*, *71*(4), 694–697.

Holliday, P. (1995). *Fungus diseases of tropical fruits.* New York: Dovel Publication, Inc.

Hussain, A., Anwar, F., Hussain, S., & Przybylski, R. (2008). Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of basil (*Ocimum basilicum*) essential oils depends on seasonal variations. *Food Chemistry, 108*(3). pp. 986-995.

Indrakumar, I., Selvi, V., Gomathi, R., & Karpagam, S. (2012). Evaluation of Antimicrobial Activity of *Cananga odorata* (Lam.) Hook.f. & Thomson Leaf Extract: an *in vitro* Study. *Journal of Pharmaceutical & Medical Sciences, 1*(1). pp. 21-22.

Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt Colombia. (2014). Bogotá D.C., Colombia. Investigación en Biodiversidad y Servicios Ecosistémicos para la Toma de Decisiones. Recuperado de: http://www.humboldt.org.co/biodiversidad#en-colombia.

Irfan, M., Ahmad, B., Jaykumar, E., & Ahmad, J. (2010). Antibacterial activity of lemongrass (*Cymbopogon citratus*) oil against some selected pathogenic bacterias. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine, 3*(7), 535-538.

Ismail, M. (2006). Central properties and chemical composition of *Ocimum basilicum* essential oil. *Pharmaceutical Biology*, *44*(8), 619–626.

Jeffries, P., Dodd, J.C., Jeger, M.J., & Plumbley, R.A. (1990). The biology and control of *Colletotrichum* species on tropical fruit crops. *Plant Pathology, 39*(3), pp. 343-366.

Kéita, S., Vincent, C., Schmit, J.P., & Bélanger, A. (2000). Essential oil composition of *Ocimum basilicum* L., *O. gratissimum* L. and *O. suave* L. in the Republic of Guinea. *Flavour and Fragrance Journal, 15*, pp. 339-341.

Kim, H., Lee, E., Kim, C., Chung, J., Kim, S., Lim, J., & Shin, T. (1997). Antianaphylactic properties of eugenol. *Pharmacological Research*, *36*(6), 475–480.

Kim, Y., Li, D., & Kolattukudy, P. (1998). Induction of Ca+2-Calmodulin Signaling by Hard-Surface Contact Primes Colletotrichum gloeosporioides Conidia To Germinate and Form Appressoria. *Journal of Bacteriology*, *180*(19), 5144–5150.

Laekeman, G. M., van Hoof, L., Haemers, A., Vanden Berghe, D.A., Herman, A. G., & Vlietinck, A. J. (1990). Eugenol a valuable compound for in vitro experimental research and worthwhile for further in vivo investigation. *Phytotherapy Research*, *4*(3), 90–96.

Lagos-López, M. I. (2007). Estudio etnobotánico de especies vegetales con propiedades medicinales en seis municipios de Boyacá, Colombia. *Actualidades Biológicas*, *29*(86), 87-96.

López, M., Stashenko, E., & Fuentes, J.L. (2011). Chemical composition and antigenotoxic properties of Lippia alba essential oils. *Genetics and Molecular Biology*, *34*(3), 479-488.

Mendoza, D.L., & Taborda, M. (2010). Composición Química y Actividad Acaricida del Aceite Esencial de *Cymbopongon citratus* Stapf Contra el Acaro Intradomiciliario *Dermatophagoides farinae* (Acari: Pyroglyphidae). *Biosalud*, *9*(2), 21-31.

Mesa-Arango, A. C., Montiel-Ramos, J., Zapata, B., Durán, C., Betancur-Galvis, L., & Elena E. (2009). Citral and carvone chemotypes from the essential oils of Colombian Lippia alba (Mill.) N.E. Brown: composition, cytotoxicity and antifungal activity. *Memórias Do Instituto Oswaldo Cruz*, *104*(6), 878–884.

Negrelle, R.R.B., & Gomes, E.C. (2007). *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf: chemical composition and biological activities. *Revista Brasileira de Plantas Medicinais*, *9*(1), 80-92.

O'Connell, R. J., Thon, M. R., Hacquard, S., Amyotte, S. G., Kleemann, J., Torres, M. F., … Vaillancourt, L. J. (2012). Lifestyle transitions in plant pathogenic Colletotrichum fungi deciphered by genome and transcriptome analyses. *Nature Genetics*, *44*, 1060-1065.

Özcan, M., & Chalchat, J.C. (2002). Essential oil composition of *Ocimum basilicum* L. and *Ocimum minimum* L. in Turkey. *Czech Journal of Food Sciences*, *20*(6), 223–228.

Palhano, F., Vilches, T., Santos, R., Orlando, M., Ventura, J., & Fernandes, P. (2004). Inactivation of Colletotrichum gloeosporioides spores by high hydrostatic pressure combined with citral or lemongrass essential oil. *International Journal of Food Microbiology*, *95*(1), 61–66.

Pattnaik, S., Subramanyam, V., Kole, C., & Sahoo, S. (1995). Antibacterial activity of essential oil of *Cymbopogon*: inter and intra- specific differences. *Microbios*, *84*(341), pp. 239-245.

Pérez Castro, L. M., Saquero, M. J., & Beltrán Herrera, J. D. (2003). Caracterización morfológica y patogénica de Colletotrichum sp. como agente causal de la antracnosis en ñame Dioscorea sp. *Revista Colombiana de Biotecnología*, *5*(1), pp. 24-35.

Pérez, A., Rojas, J., Chamorro, L., & Pérez, K. (2011). Evaluación in vitro de actividad inhibitoria de extractos vegetales sobre cepas de hongos del género Colletotrichum sp. *Acta Agronómica*, *60*(2), pp. 158-164.

Pinzón, Y.A., Bustamante, S., & Buitrago, G. (2013). Diagnóstico molecular diferencial de *Colletotrichum gloeosporioides* y *Fusarium oxysporum* en ñame (*Dioscorea* sp.). *Revista Colombiana de Biotecnología*, *15*(1), pp.52-60.

Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente. Oficina Regional para América Latina y el Caribe. (2011). Decenio de las Naciones Unidas sobre la Biodiversidad 2011-2020. Retrieved from http://www.pnuma.org/biodiversidad/index.php.

Reina, Y. (2012). El cultivo de ñame en el Caribe colombiano. Banco de la República.

Ríos, E. (2010). Evaluación del aceite esencial y estudio de conservación en frio del Cymbopogon citratus cultivado en la región del Quindío. *Revista de Investigación Universidad Quindío*, *20*, pp. 24-28.

Rodríguez-Álvarez, M., Alcaráz-Meléndez, L., & Real-Cosío, S. (2012). *Procedimientos para la extracción de aceites esenciales en plantas aromáticas.* La Paz, Baja California Sur, México: Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C.

Rodríguez–López, E. S., González–Prieto, J. M., & Mayek–Pérez, N. (2009). La Infección de *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. y Sacc. en Aguacatero (*Persea americana* Mill.): Aspectos Bioquímicos y Genéticos. *Revista Mexicana de Fitopatología*, *27*(1), 53–63.

Rojas, J., Ronceros, S., Palacios, O., & Sevilla, C. (2012). Efecto anti-*Trypanosoma cruzi* del aceite esencial de *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf (hierba luisa) en ratones Balb/c. *Anales de La Facultad de Medicina*, *73*(1), 7–12.

Sacchetti, G., Maietti, S., Muzzoli, M., Scaglianti, M., Manfredini, S., Radice, M.,… Bruni, R. (2005). Comparative evaluation of 11 essential oils of different origin as functional antioxidants, antiradicals and antimicrobials in foods. *Food Chemistry, 91*, pp. 621-632.

Saldarriaga-Cardona, A., Castaño-Zapata, J., & Arango-Isaza, R. (2008). Rafael. Caracterización del agente causante de la antracnosis en tomate de árbol, manzano y mora. *Revista de La Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas Y Naturales*, *32*(123), 145–156.

Sam, O., de la Luz, M., & Barroso, L. (2002). Caracterización anatómica de las hojas de la albahaca blanca (Ocimum basilicum L.). *Cultivos Tropicales*, *23*(2), 39–42.

Sánchez, E., Leal, I., Fuentes, L., & Rodríguez, C. (2000). Estudio farmacognóstico de *Ocimum basilicum* L. (albahaca blanca). *Rev. Cubana Farm, 34*(3), pp. 187-195.

Secretaria de Desarrollo Económico y Medio Ambiente de Sucre, Gobernación de Sucre, & Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural. (2008). Informe de Coyuntura. Sincelejo.

Shukla, R., Kumar, A., Singh, P., & Dubey, N. (2009). Efficacy of *Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown essential oil and its monoterpene aldehyde constituents against fungi isolated from some edible legume seeds and aflatoxin B1 production. *International Journal of Food Microbiology*, *135*(2), 165–170.

Soto, R., Vega, G., & Tamajón, A.L. (2002). Instructivo técnico del cultivo de Cymbopogon citratus (D.C) Stapf (caña santa). *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, *7*(2), 89–95.

Stashenko, E., Jaramillo, B., & Martínez, J. (2004). Comparison of different extraction methods for the analysis of volatile secondary metabolites of *Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown, grown in Colombia, and evaluation of its *in vitro* antioxidant activity. *Journal of Chromatography A, 1025*(1), pp. 93-103.

Tadtong, S., Suppawat, S., Tintawee, A., Saramas, P., Jareonvong, S., & Hongratanaworakit, T. (2012). Antimicrobial activity of blended essential oils preparations. *Natural Product Communications*, *7*(10), 1401-1404.

Tajidin, N.E., Ahmad, S.H., Rosenani, A.B., Azimah, H., & Munirah, M. (2012). Chemical composition and citral content in lemongrass (*Cymbopogon citratus*) essential oil at three maturity stage. *African Journal of Biotechnology, 11*(11), pp. 2685-2693.

Tzortzakis, N., & Economakis, C.D. (2007). Antifungal activity of lemongrass (*Cympopogon citratus* L.) essential oil against key postharvest pathogens. *Innovative Food Science & Emerging Technologies, 8*(2), pp. 253-258.

Vásquez, D. (2012). *El orégano de monte (Lippia origanoides) del Alto Patía: Efecto del método de obtención de sus extractos sobre la composición y la actividad antioxidante de los mismos.* (Trabajo fin de Master inédito). Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias, Colombia.

Vera, A., Olivero, J., Jaramillo, B., & Stashenko, E. (2010). Efecto protector del aceite esencial de *Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown sobre la toxicidad del mercurocromo en raíces de *Allium cepa* L. *Revista Cubana de Plantas Medicinales, 15*(1), pp. 27-37.

World Health Organization. Programme for the Promotion of Chemical Safety, & Food and Agriculture Organization of the United Nations - See more at: http://apps.who.int/iris/handle/10665/61383#sthash.bPvzJQNz.dpuf. (1994).

WHO/FAO data sheet on pesticides. no. 87, Benomyl. Geneva : World Health Organization. Retrieved from http://www.who.int/iris/handle/10665/61383#sthash.bPvzJQNz.dpuf

ANEXOS

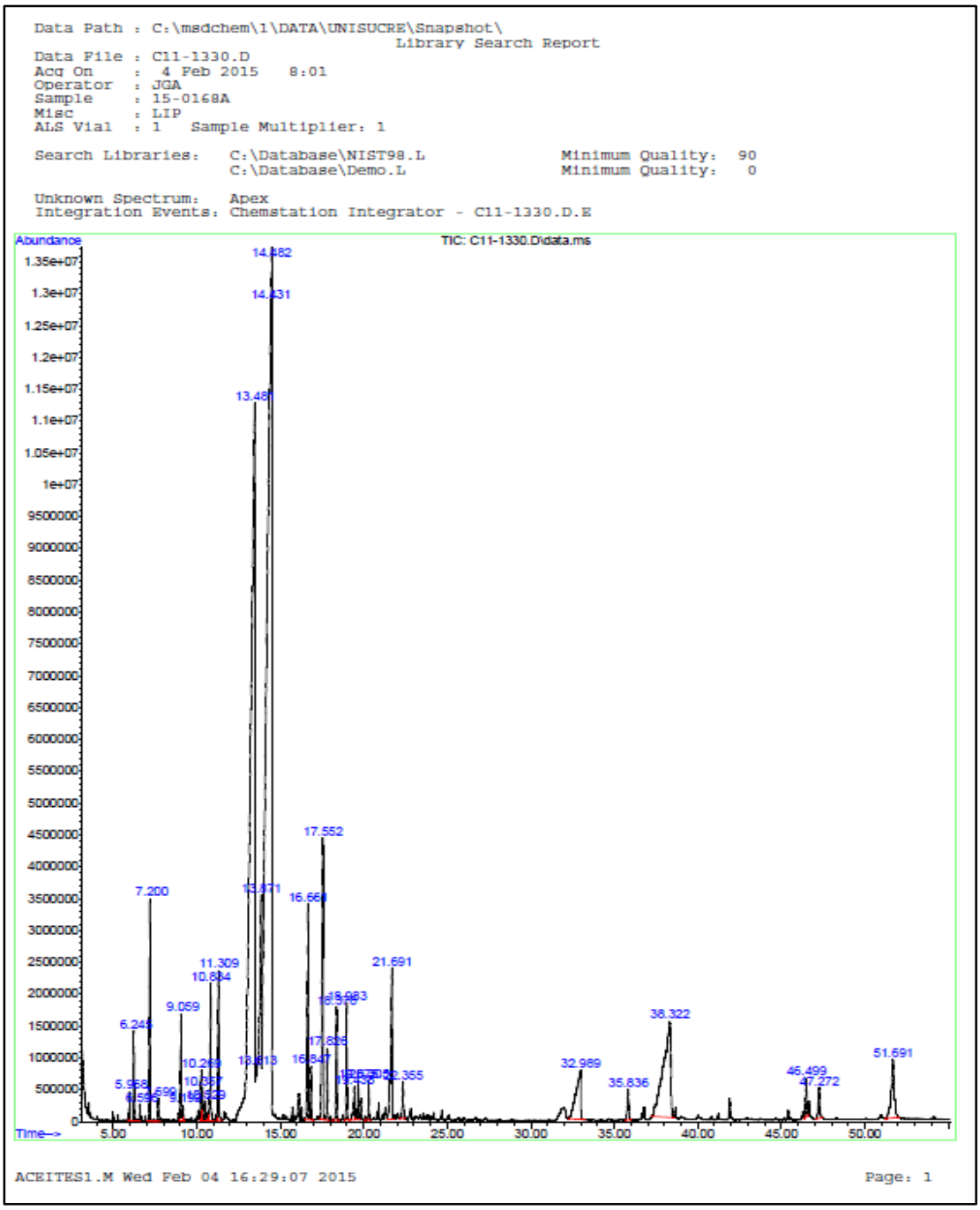
Anexo A. Cromatógrafo de gases Agilent 6890N acoplado a un detector selectivo de masa Agilent 5973N.

Fuente: Laboratorio de Análisis Instrumental, Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín.

Anexo B. Equipo de hidrodestilación asistida por radiación de microondas (MWHD).

Fuente: Vitola-R y Hernández-G.

Anexo C. Cromatograma del aceite esencial de lippia colectada en la ciudad de Sincelejo.



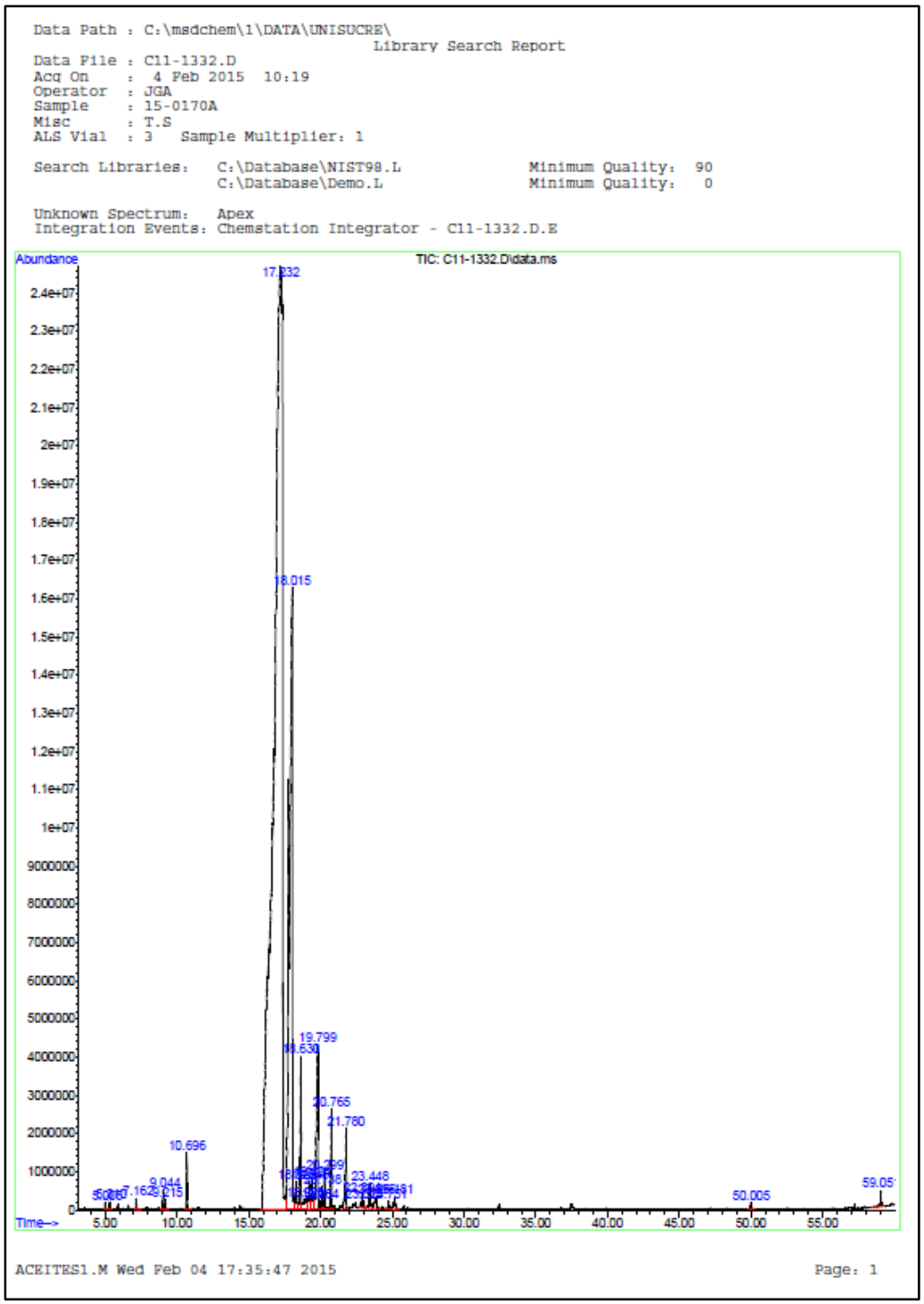
Fuente: Laboratorio de Análisis Instrumental, Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín.

Anexo D. Perfil cromatográfico del aceite esencial de lippia de Sincelejo.

Pk#	RT	% Area	Identification
1	5,969	0,12	Dodecano
2	6,247	0,38	Not
3	6,596	0,08	α-Felandreno
4	7,197	1,07	Limoneno
5	7,701	0,11	Not
6	9,058	0,63	Linalool
7	9,194	0,09	Not
8	10,267	0,28	Not
9	10,532	0,11	Citronelal
10	10,826	0,88	Not
11	11,307	1,00	Not
12	13,479	28,73	Not
13	14,429	34,62	Citral
14	14,480	5,41	Citral
15	16,658	1,65	Acetato de Geranilo
16	16,845	0,32	β-Elemene
17	17,550	2,21	Cariofileno
18	17,828	0,46	α-Guaieno
19	18,377	0,70	α-Cariofileno+Acetato de Geranilo
20	18,984	0,65	β-Cubebeno + (+)-Epi-biciclo sesqui-felandreno + γ-Muurolene
21	19,437	0,26	δ-Guaieno
22	19,676	0,19	Butirato de Geranilo + Acetato de nerilo
23	20,303	0,24	Not
24	21,692	1,56	Óxido de Cariofileno + 2,8-P-Mentadieno
25	22,358	0,35	Not
26	32,988	1,79	Ácido n-Hexadecanoico
27	35,838	0,34	1-Octadeceno + 1-Hexadeceno + 1-Heptadecanol
28	38,319	5,28	Ácido Oleico + Ácido (E)-Palmitoleico
29	46,501	0,34	Not
30	47,270	0,37	Not
31	51,690	1,29	Ácido Oleico, 3-hidroxipropil ester (Citrol A)

Fuente: Laboratorio de Análisis Instrumental, Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín.

Anexo E. Cromatograma del aceite esencial de Albahaca colectada en la ciudad de Sincelejo.



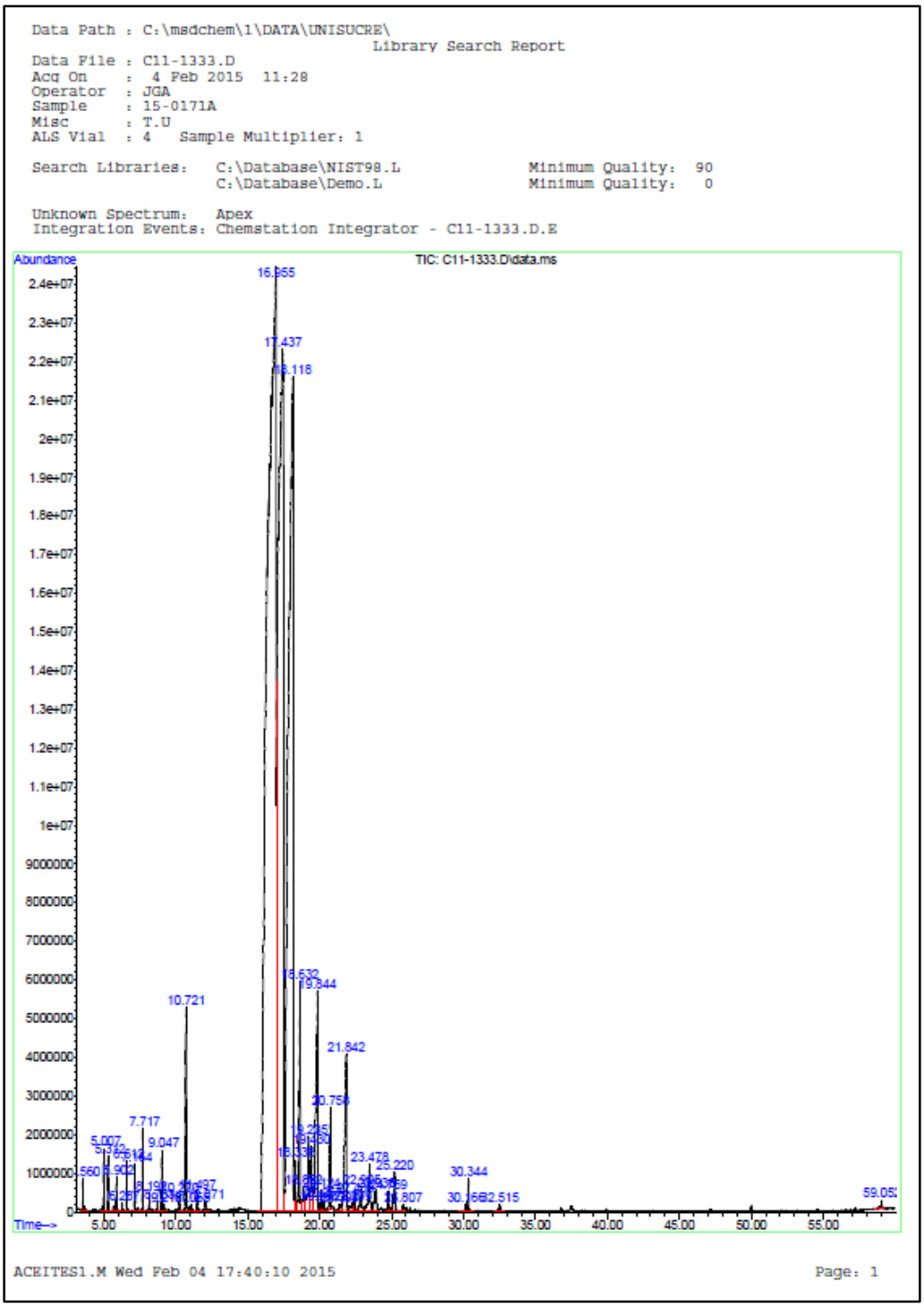
Fuente: Laboratorio de Análisis Instrumental, Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín.

Anexo F. Perfil cromatográfico del aceite esencial de Albahaca de Sincelejo.

Pk#	RT	% Area	Identification
1	5,007	0,03	Pineno
2	5,310	0,03	Camfeno
3	7,165	0,07	Eucaliptol
4	9,046	0,10	Not
5	9,214	0,05	Not
6	10,693	0,36	Borneol
7	17,233	75,44	Eugenol
8	18,015	16,28	Cariofileno
9	18,325	0,23	Not
10	18,629	1,17	α-Cariofileno
11	18,926	0,28	Not
12	19,243	0,37	Eremofileno
13	19,424	0,26	Not
14	19,799	2,13	β-Elemene
15	19,967	0,07	Not
16	20,141	0,16	Not
17	20,296	0,21	Not
18	20,768	0,87	α-Elemol + Hedicariol
19	21,783	0,76	Not
20	22,894	0,13	Not
21	23,017	0,05	β-Cubebeno + γ-Cadineno
22	23,450	0,28	Not

Fuente: Laboratorio de Análisis Instrumental, Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín.

Anexo G. Cromatograma del aceite esencial de Albahaca colectada en el municipio de La Unión.



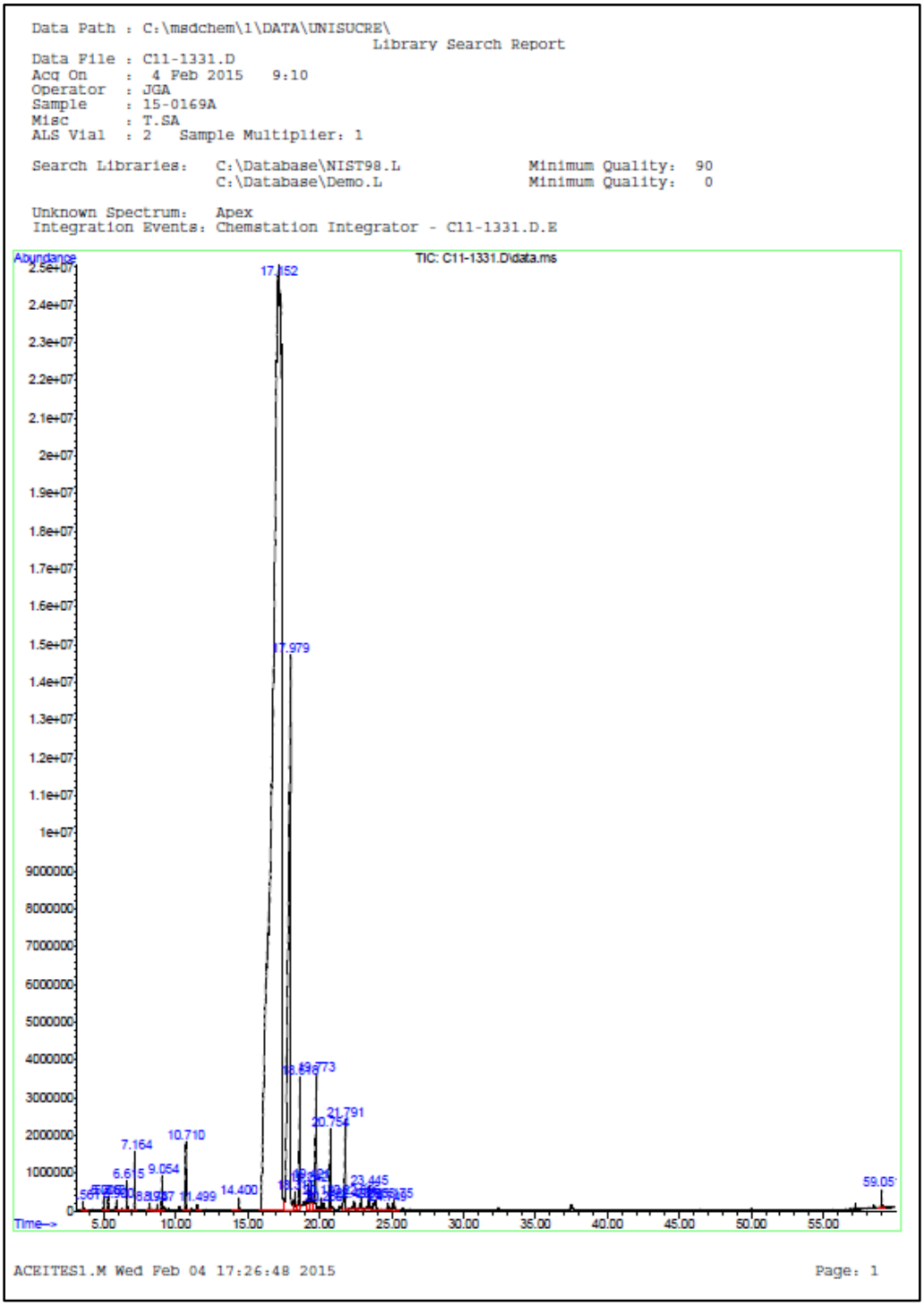
Fuente: Laboratorio de Análisis Instrumental, Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín.

Anexo H. Perfil cromatográfico del aceite esencial de Albahaca de La Unión.

Pk#	RT	% Area	Identification
1	3,559	0,08	3-Hexen-1-ol
2	5,007	0,14	Pineno
3	5,310	0,13	Camfeno + Artemisia trieno
4	5,905	0,11	α, β-Pireno
5	6,286	0,03	Not
6	6,609	0,13	Not
7	7,165	0,19	Eucaliptol
8	7,714	0,21	Not
9	8,192	0,06	Not
10	8,735	0,03	Not
11	9,045	0,19	Linalool
12	9,213	0,03	Not
13	10,267	0,06	Alcanfor
14	10,719	0,89	Borneol
15	16,955	45,15	Eugenol
16	17,433	23,11	(+)-Aromadendreno + β-Elemene
17	18,118	20,15	Cariofileno
18	18,338	0,19	Not
19	18,635	1,39	α-Cariofileno
20	18,894	0,22	Not
21	19,236	0,52	Eremofileno
22	19,430	0,53	Not
23	19,844	2,15	β-Elemene + Eremofileno
24	19,980	0,04	Not
25	20,122	0,08	Not
26	20,264	0,05	Not
27	20,755	0,71	α-Elemol
28	21,401	0,06	Not
29	23,934	0,27	Óxido Cariofileno
30	25,808	0,03	Not
31	30,164	0,04	9,17-Octadecadienal, (Z)- + 4-Tetradecyne + 2-Chloroetil linoleato
32	32,516	0,05	Ácido n-Hexadecanoico

Fuente: Laboratorio de Análisis Instrumental, Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín.

Anexo I. Cromatograma del aceite esencial de Albahaca colectado en el municipio de Sampués.



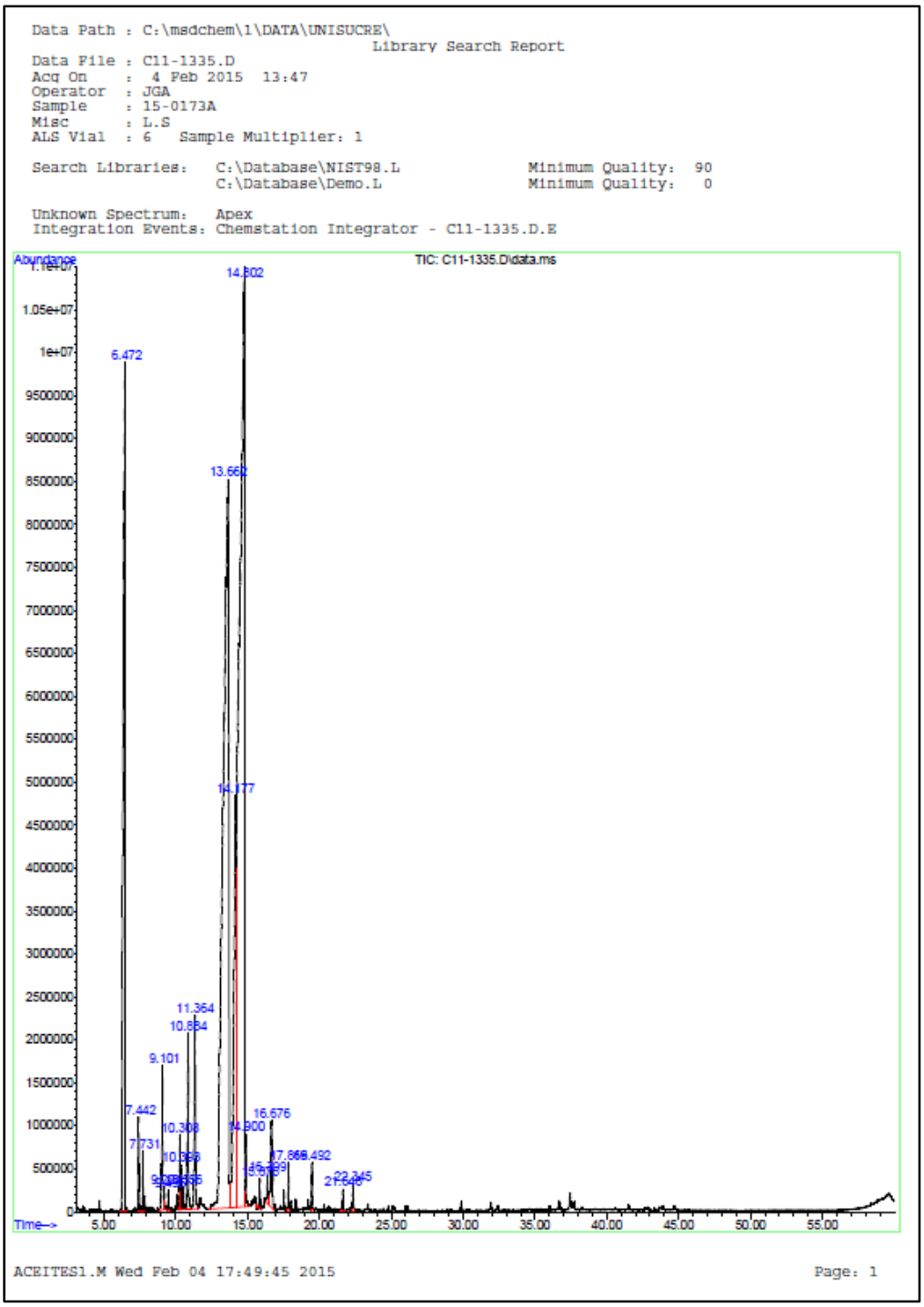
Fuente: Laboratorio de Análisis Instrumental, Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín.

Anexo J. Perfil cromatográfico del aceite esencial de Albahaca de Sampués.

Pk#	RT	% Area	Identification
1	3,339	0,04	3-Hexen-1-ol
2	5,006	0,05	α-Pineno
3	5,310	0,05	Camfeno
4	5,898	0,06	β-Pireno
5	6,616	0,15	Not
6	7,165	0,28	Eucaliptol
7	8,192	0,04	1-Octanol + Ácido Fórmico, octil ester
8	8,735	0,05	Not
9	9,052	0,16	Linalol
10	10,713	0,45	Borneol
11	11,501	0,04	Not
12	14,403	0,07	Tridecano
13	17,149	80,28	Eugenol
14	17,976	12,44	Cariofileno
15	18,312	0,14	Not
16	18,616	0,92	α-Cariofileno
17	19,243	0,29	α-Guaieno
18	19,424	0,24	Not
19	19,773	1,55	β-Elemene
20	20,128	0,13	Not
21	20,277	0,05	Not
22	20,755	0,65	Elemol + Hedicariol
23	21,789	0,88	Not

Fuente: Laboratorio de Análisis Instrumental, Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín.

Anexo K. Cromatograma del aceite esencial de limoncillo colectada en la ciudad de Sincelejo.



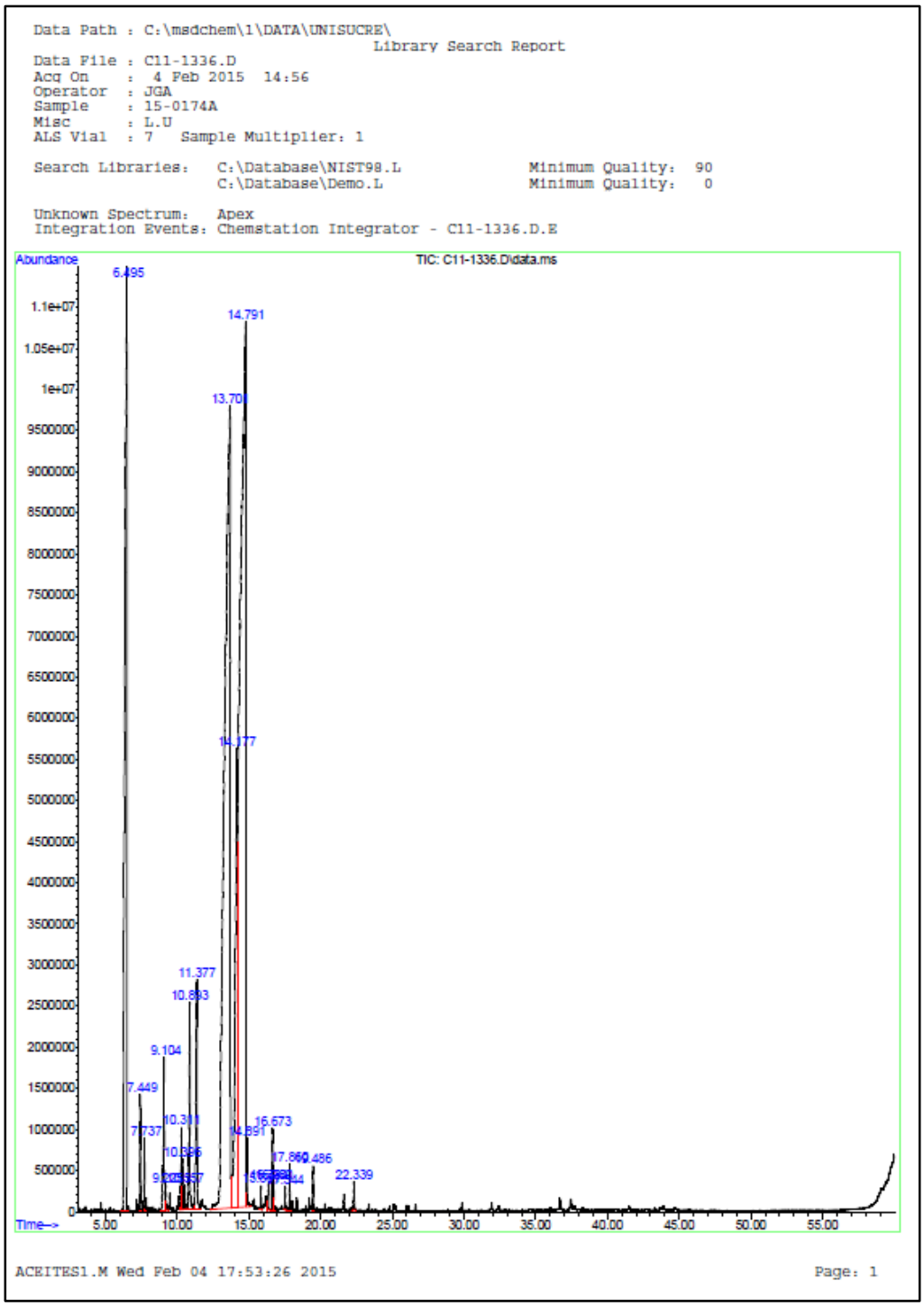
Fuente: Laboratorio de Análisis Instrumental, Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín.

Anexo L. Perfil cromatográfico del aceite esencial de limoncillo de Sincelejo.

Pk#	RT	% Area	Identification
1	6,473	12,04	β-Pireno
2	7,443	0,36	Pireno + β-Ocimeno + 4-Careno
3	7,733	0,26	α,β-Ocimeno
4	9,103	1,15	Linalool
5	9,226	0,13	Not
6	9,498	0,10	Not
7	10,305	0,47	Not
8	10,396	0,25	Not
9	10,557	0,15	Citronelal
10	10,88	1,33	Not
11	11,365	1,61	Not
12	13,659	32,75	Not
13	14,176	6,44	Geranial (Citral A) + Citral
14	14,803	40,60	Geranial (Citral A) + Citral
15	14,90	0,28	2-Undecanona
16	15,876	0,12	Not
17	16,399	0,18	Not
18	16,677	1,01	Not
19	17,866	0,24	Spiro[5.5]undec-1-ene
20	19,495	0,21	2-Tridecanona
21	21,647	0,13	Not
22	22,345	0,18	Not

Fuente: Laboratorio de Análisis Instrumental, Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín.

Anexo M. Cromatograma del aceite esencial de limoncillo colectada en el municipio de La Unión.



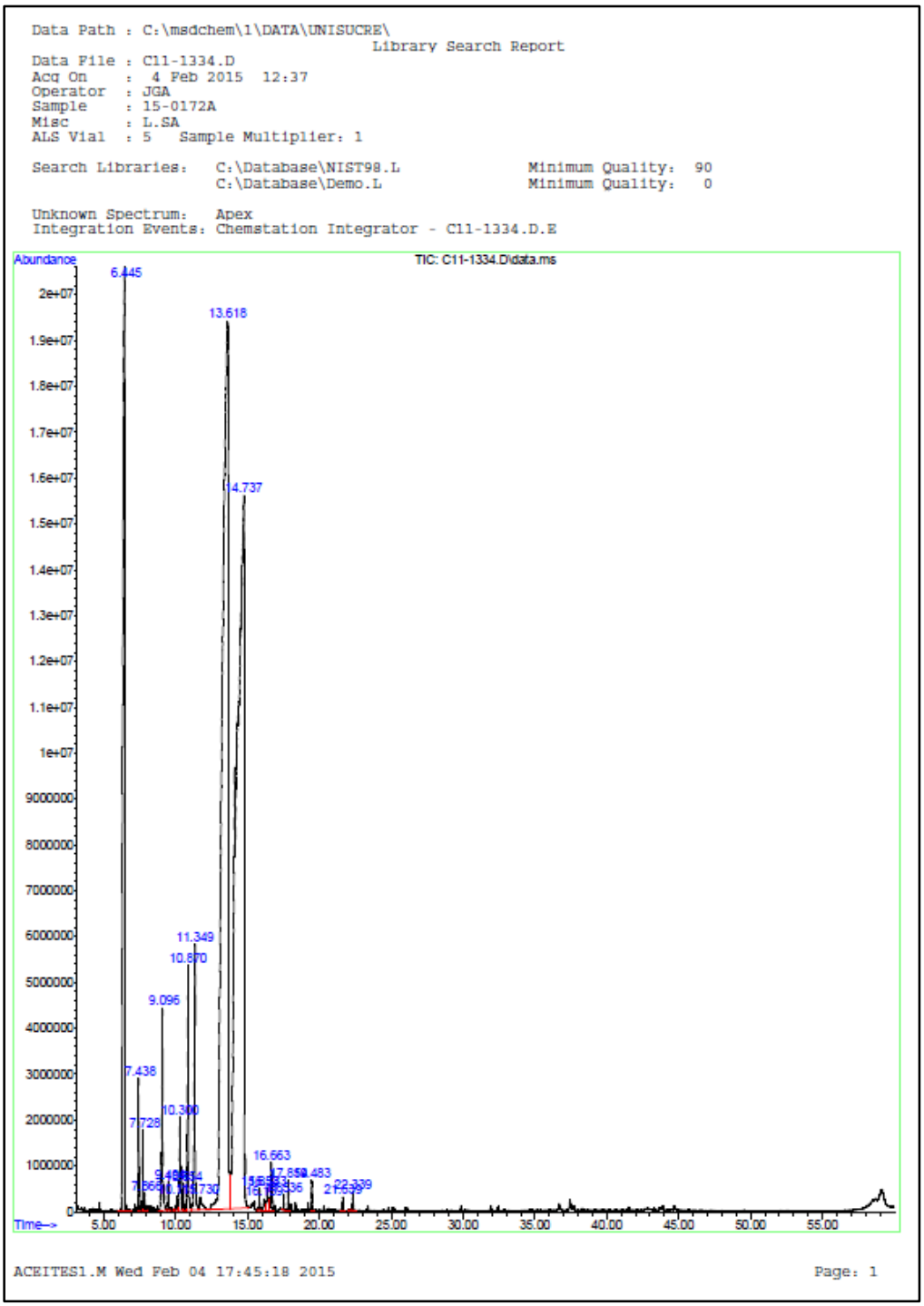
Fuente: Laboratorio de Análisis Instrumental, Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín.

Anexo N. Perfil cromatográfico del aceite esencial de limoncillo de La Unión.

Pk#	RT	% Area	Identification
1	6,493	13,88	β-Myrceno + (1S)-(1)-β-Pineno
2	7,449	0,42	Pineno + β-Ocimeno
3	7,734	0,25	α,β-Ocimeno
4	9,104	1,16	Linalool
5	9,226	0,15	Not
6	10,312	0,48	Not
7	10,396	0,25	Not
8	10,558	0,14	Citronelal
9	10,894	1,47	Not
10	11,378	1,78	Not
11	13,698	34,22	Not
12	14,177	6,58	Geranial (Citral A) + Citral
13	14,790	37,4	Geranial (Citral A) + Citral
14	14,887	0,26	2-Undecanona
15	15,863	0,10	Not
16	16,387	0,25	Not
17	16,671	0,42	Not
18	16,749	0,11	Not
19	17,543	0,10	Cariofileno
20	17,860	0,22	Eucarvona
21	19,488	0,18	2-Tridecanona
22	22,338	0,17	Not

Fuente: Laboratorio de Análisis Instrumental, Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín.

Anexo Ñ. Cromatograma del aceite esencial de limoncillo colectado en el municipio de Sampués.



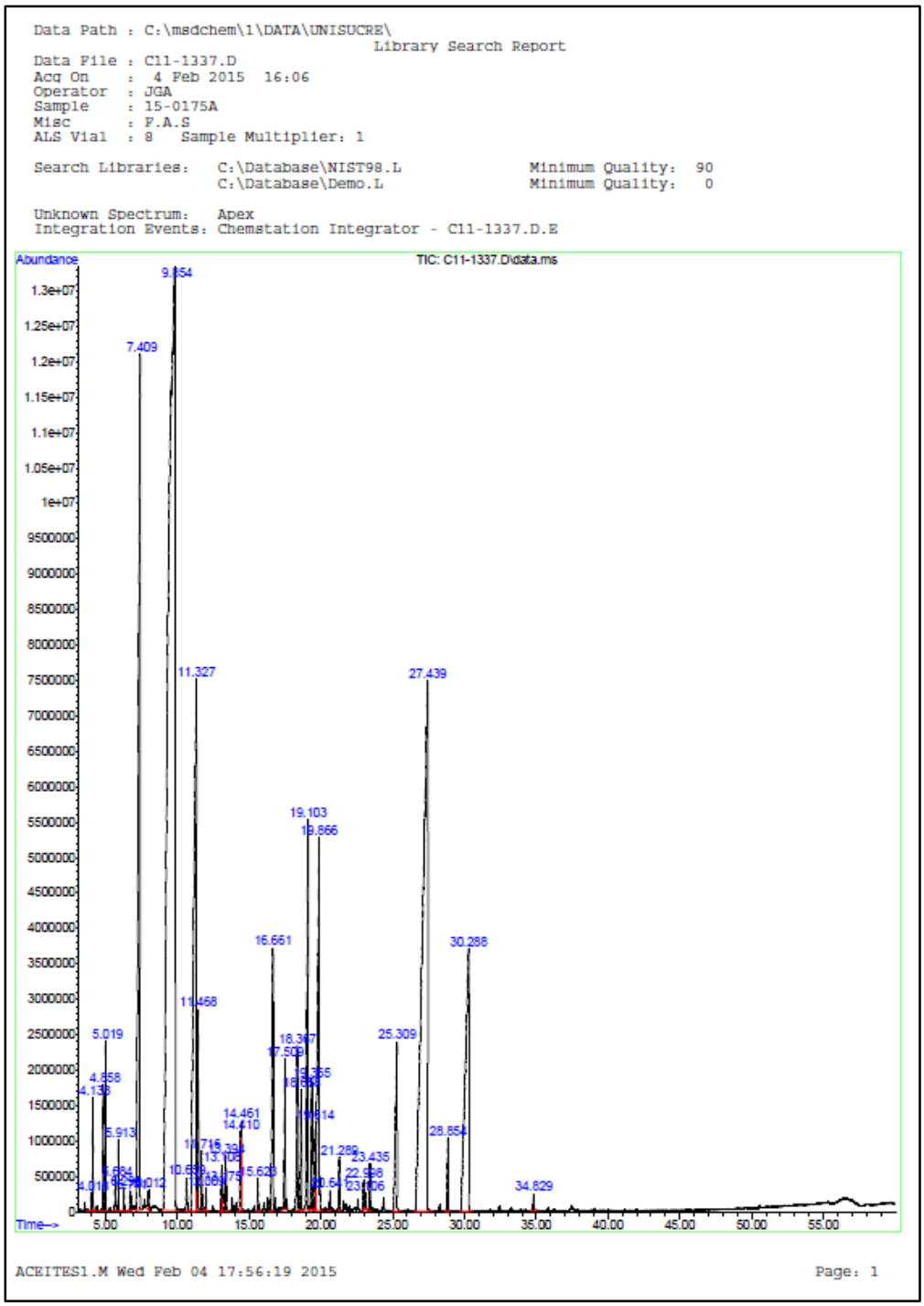
Fuente: Laboratorio de Análisis Instrumental, Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín.

Anexo O. Perfil cromatográfico del aceite esencial de limoncillo de Sampués.

Pk#	RT	% Area	Identification
1	6,448	13,47	β-Pireno
2	7,436	0,46	β-Ocimeno + α-Pineno
3	7,727	0,27	α,β-Ocimeno
4	7,863	0,10	Not
5	9,097	1,59	Linalool
6	9,491	0,12	Not
7	10,112	0,13	Not
8	10,299	0,75	Not
9	10,558	0,17	Not
10	10,868	1,57	Not
11	11,346	1,91	Not
12	11,727	0,27	Not
13	13,621	39,34	Not
14	14,739	38,34	E-Citral (Geranial)
15	15,857	0,11	Not
16	16,160	0,12	Not
17	16,380	0,21	Not
18	16,664	0,53	Acetato de Geranilo
19	17,537	0,07	Cis-Cariofileno
20	17,853	0,15	3,5-Heptadienal, 2-etilidene-6-metil-
21	19,482	0,14	2-Tridecanona
22	21,640	0,08	Óxido de Cariofileno
23	22,338	0,11	Not

Fuente: Laboratorio de Análisis Instrumental, Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín.

Anexo P. Cromatograma del aceite esencial de flor de amor colectada en la ciudad de Sincelejo.



Fuente: Laboratorio de Análisis Instrumental, Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín.

Anexo Q. Perfil cromatográfico del aceite esencial de flor de amor de Sincelejo.

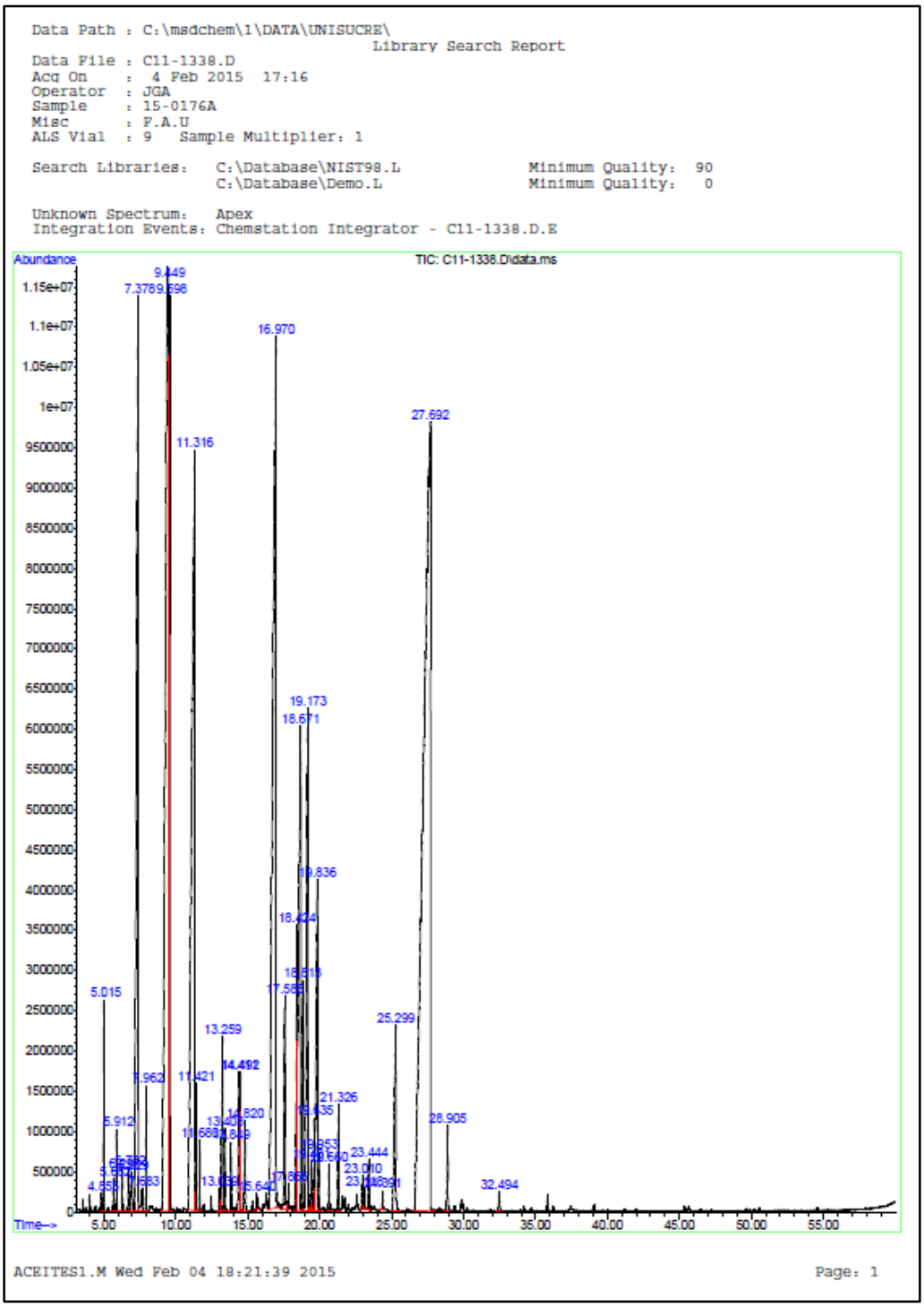
Pk#	RT	% Area	Identification
1	4,018	0,08	Acetato de Isoamilo
2	4,134	0,34	Not
3	4,858	0,47	Not
4	5,019	0,45	Pineno
5	5,685	0,18	Benzaldehido
6	5,911	0,23	β-Pineno
7	6,299	0,08	β-Mirceno
8	6,738	0,18	Not
9	7,410	9,24	Anisol
10	8,011	0,11	Alcohol Bencílico
11	9,853	39,52	Linalool
12	10,661	0,23	Veratrol
13	11327	8,50	Plastolin
14	11,469	0,89	Metil Benzoato
15	11,714	0,19	Not
16	12,012	0,07	Metil Salicilato
17	13,110	0,20	3-Metil Veratrol
18	13,175	0,09	Not
19	13,394	0,22	Not
20	14,409	0,48	Not
21	14,461	0,30	Not
22	15,624	0,16	Dimetil Salicilato
23	16,664	1,80	Acetato de Geranilo
24	17,511	0,69	Cariofileno
25	18,364	1,41	γ-Fenilalil Acetato
26	18,655	0,71	Eugenol
27	19,101	2,83	Germacreno
28	19,366	0,58	Not
29	19,618	0,37	α-Farneseno
30	19,863	3,58	Isoeugenol
31	20,639	0,08	Hedicariol
32	21,291	0,24	β-Bourboneno+Linderol
33	22,997	0,18	τ-Cadinol+2-Isopropil-5-metil-9-metileno-biciclo-1-deceno(4.4.0)

Anexo Q. (Continuación).

34	23,107	0,07	α-Copaeno+ (-)-Cedreanol
35	23,437	0,24	α-Cadinol
36	25,311	1,76	Farnesol
37	27,437	17,12	Benzoato de Bencilo
38	28,852	0,41	(E)-Farnesil Acetato
39	30,287	5,60	Salicilato de Bencilo
40	34,830	0,11	Not

Fuente: Laboratorio de Análisis Instrumental, Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín.

Anexo R. Cromatograma del aceite esencial de flor de amor colectada en el municipio de La Unión.



Fuente: Laboratorio de Análisis Instrumental, Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín.

Anexo S. Perfil cromatográfico del aceite esencial de flor de amor de La Unión.

Pk#	RT	% Area	Identification
1	4,858	0,05	Not
2	5,013	0,44	α-Pineno
3	5,685	0,12	Benzaldehido
4	5,911	0,19	L-β-Pineno
5	6,299	0,11	Not
6	6,732	0,24	Not
7	6,932	0,22	Not
8	7,378	6,79	p-Metoxitolueno
9	7,682	0,21	α-Toluenol
10	7,960	0,29	α-Pineno
11	9,446	15,52	Not
12	9,601	4,43	Linalool
13	11,314	10,71	Acetato de Bencilo
14	11,423	0,35	Benzoato de etilo
15	11,682	0,17	Not
16	13,039	0,11	Not
17	13,259	0,89	Not
18	13,407	0,29	Feniletil metacrilato+Fenetil Acetato
19	13,847	0,23	Geraniol
20	14,409	0,77	Anetol
21	14,493	0,39	Not
22	14,823	0,38	Carvacrol
23	15,643	0,10	Not
24	16,968	13,84	Acetato de Nerilo
25	17,582	0,98	Cariofileno
26	17,866	0,07	(Z,E)-α-Farneseno
27	18,422	1,32	Acetato de Cinamilo
28	18,674	4,51	Acetato de (E)-Cinamilo
29	18,816	0,78	Isoeugenol
30	19,172	3,16	D-Germacreno
31	19,430	0,20	Not
32	19,637	0,28	α-Farneseno
33	19,837	1,93	Isoeugenol
34	19,954	0,19	β-Cadineno
35	20,658	0,14	Not
36	21,324	0,45	β-Bourboneno

Anexo S. (Continuación).

37	23,010	0,15	τ-Cadinol+epi-Biciclo sesquifelandreno
38	23,120	0,07	α-Copaeno
39	23,443	0,19	α-Cadinol+ Elixeno
40	24,393	0,07	Not
41	25,298	1,48	Not
42	27,695	26,76	Benzoato de Bencilo
43	28,904	0,36	Acetato de (E)-Farnesilo
44	32,497	0,10	Not

Fuente: Laboratorio de Análisis Instrumental, Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín.