



Actividad antifúngica del aceite esencial y extracto acuoso del orégano *Lippia palmeri* W. sobre *Fusarium oxysporum* y *Thanatephorus* sp.

Antifungal activity of the essential oil and aqueous extract of oregano *Lippia palmeri* W. on *Fusarium oxysporum* and *Thanatephorus* sp.

Genesis Valenzuela-Quintero*¹, María Magdalena Ortega-Nieblast¹, María Guadalupe Burboa-Zazueta¹, Luis Enrique Gutiérrez-Millán¹, Juan Pedro López-Córdova², María Eugenia Rentería-Martínez², José Jiménez-León², Gilberto Curlango-Rivera³ y José Cosme Guerrero-Ruíz²

¹ Departamento de Investigaciones Científicas y Tecnológicas. Universidad de Sonora. Avenida Luis Donaldo Colosio s/n Edificio 7G, Centro, C. P. 83000, Hermosillo, Sonora, México; correo-e: genesis.valqu12@gmail.com, maria.burboa@unison.mx, luis.millan@unison.mx

² Departamento de Agricultura y Ganadería. Universidad de Sonora. Carretera 100 a Bahía de Kino km. 21.5, Hermosillo, Sonora, México; correo-e: pedro.lopez@unison.mx, eugenia.renteria@unison.mx, jose.jimenez@unison.mx, cos-meguerrero@hotmail.com

³ Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada. Carretera Ensenada-Tijuana No. 3918, Zona Playitas, C.P. 22860, Ensenada, Baja California, México; correo-e: curlango@arizona.edu

RESUMEN

En los últimos años en la agricultura ha existido una creciente necesidad de disminuir y sustituir el uso de químicos sintéticos por la aplicación de extractos vegetales y aceites esenciales en los cultivos para el control de fitopatógenos. El objetivo de este trabajo fue evaluar *in vitro* el efecto del aceite esencial y extracto acuoso de la especie vegetal *Lippia palmeri* W. colectada en Sonora, México. La actividad antifúngica se realizó mediante el método de difusión en agar sobre los hongos fitopatógenos *Fusarium oxysporum* y *Thanatephorus* sp. Se determinó el porcentaje de inhibición del crecimiento micelial de las dosis de aceite esencial 0, 100, 150, 200, 250 y 300 µL/mL y del extracto acuoso liofilizado 0, 0.10, 0.15, 0.20, 0.25 y 0.30 g, el cual fue evaluado mediante un análisis de varianza (ANOVA) y posterior comparación de medias de Tukey ($p \leq 0.05$). El aceite esencial y el carvacrol de *Lippia palmeri* W. lograron inhibir al 100 % el crecimiento de *Fusarium oxysporum* a diferencia de *Thanatephorus* sp. que obtuvo entre 90 y 100 %. El extracto acuoso inhibió según la dosis aplicada a *F. oxysporum* entre el 20 y 100 % y para *Thanatephorus* sp. fue de 10 a 100 %.

Palabras claves: *Fusarium oxysporum*, *Thanatephorus* sp., *Lippia palmeri* W., orégano, antifúngico.

ABSTRACT

In recent years there has been a growing need in agriculture to reduce and replace the use of synthetic chemicals with the application of plant extracts and essential oils in crops for the control of phytopathogens. The objective of this work was to evaluate the *in vitro* effect of the essential oil and aqueous extract of the plant species *Lippia palmeri* W. collected in the state of Sonora, Mexico. The antifungal activity was determined by the agar diffusion method on the *Fusarium oxysporum* and *Thanatephorus* sp. phytopathogenic fungi. The percentage of inhibition of mycelial growth of the dose

*Autor para correspondencia: Genesis Valenzuela Quintero

Correo electrónico: genesis.valqu12@gmail.com

Recibido: 2 de diciembre de 2022

Aceptado: 8 de marzo de 2023

of essential oil 0, 100, 150, 200, 250 and 300 µL/mL and of the lyophilized aqueous extract 0, 0.10, 0.15, 0.20, 0.25 and 0.30 g will be decreased, which was evaluated through an analysis of variance (ANOVA) and its subsequent Tukey comparison of means ($p \leq 0.05$). The essential oil and carvacrol of *Lippia palmeri* W. managed to inhibit 100 % of the growth of *Fusarium oxysporum*, unlike *Thanatephorus* sp., which obtained between 90 and 100 %. Depending on the dose applied, the aqueous extract inhibited *F. oxysporum* between 20 and 100 % and *Thanatephorus* sp. it was from 10 to 100 %.

Key words: *Fusarium oxysporum*, *Thanatephorus* sp., *Lippia palmeri*, oregano, antifungi.

INTRODUCCIÓN

En ambientes propicios, los hongos fitopatógenos del suelo pueden traer consigo pérdidas económicas catastróficas al atacar entre el 60 % y 100 % de la superficie de siembra (Rivera, 2009), estos se localizan naturalmente en suelos agrícolas, pueden encontrarse una o diversas especies, provocando podredumbre en las raíces y cuello de las plantas, lo que puede afectar al productor al hacer un diagnóstico incorrecto (Fernández-Herrera *et al.*, 2013).

Fusarium oxysporum y *Thanatephorus cucumeris* (Anamorfo: *Rhizoctonia solani*) son hongos que afectan a diversos cultivos alrededor del mundo y tienen una gran cantidad de hospederos incluyendo plantas silvestres, cultivos y malezas (Ajayi-Oyetunde y Bradley, 2018; CABI, 2020). En el estado de Sonora se ha registrado la presencia de los hongos *F. oxysporum* y *T. cucumeris* en cultivos importantes para la región, como lo son el chile, tomate, garbanzo, sandía, melón, papa y vid, entre otros (Padilla *et al.*, 2006; Silva-Rojas *et al.*, 2009; Ramírez *et al.*, 2012; Meza-Möller *et al.*, 2014).

En las últimas décadas los fungicidas más utilizados en agricultura, para el control de enfermedades originadas por hongos generalmente, se clasifican dentro de los siguientes

grupos: fosforados, clorados, carbamatos, nitroderivados y derivados aromáticos, que tienen acción protectora y de prevención (Almandoz *et al.*, 2000; Martínez-Romero *et al.*, 2008; Cantrell *et al.*, 2012; Murillo *et al.*, 2013). El impacto negativo que estos fungicidas han tenido para la naturaleza y para el consumidor, han forzado a la comunidad científica a buscar y proponer nuevas alternativas naturales y libres de residuos tóxicos (Sayuri *et al.*, 2018). Siempre y cuando sustituyan los fungicidas químicos sintéticos con el uso de aceites esenciales para inhibir cualquier tipo de organismo fitopatógenos (Silva-Marrufo y Marín-Tinoco, 2021; Marín-Tinoco *et al.*, 2021), como se planteó en esta investigación.

La naturaleza química de los aceites esenciales y extractos acuosos los hacen ser una excelente alternativa como biocontroladores de fitopatógenos; éstos son extraídos de las plantas por diferentes procesos y pueden tener entre 50 y 300 compuestos químicos, de los cuales uno o dos serán los de mayor porcentaje en la composición. Los aceites esenciales están formados principalmente por terpenos, monoterpenos y sesquiterpenos, además de sustancias azufradas y nitrogenadas; por su parte, los extractos acuosos están compuestos principalmente por alcaloides, taninos, quinonas, cumarinas, compuestos fenólicos y fitoalexinas (Stashenko, 2009; Ruíz *et al.*, 2015; Wangkhem *et al.*, 2019).

Recientemente, Romero-Bastidas *et al.* (2020) han aplicado el extracto etanólico de orégano en semillas de garbanzo, como inhibidor de *Fusarium oxysporum* y *Fusarium solani*, obteniendo resultados positivos al concluir que *L. palmeri* puede ser una alternativa natural para el control eficaz de los agentes mencionados anteriormente. El objetivo de este trabajo fue evaluar la actividad antifúngica del aceite esencial y extracto acuoso de orégano *Lippia palmeri* W. sobre los hongos patógenos *Fusarium oxysporum* y *Thanatephorus* sp. de manera *in vitro*

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal

Las hojas de las plantas de orégano (*Lippia palmeri* Watson), se colectaron en la época de floración en el mes de septiembre, en el campo experimental del Departamento de Agricultura y Ganadería de la Universidad de Sonora, localizado en el km. 21 de la carretera Hermosillo a Bahía de Kino, Sonora, México (29.01595217894536, -111.13341050793869).

Extracción del aceite esencial y extracto acuoso

Se establecieron dos tipos de bioensayos, uno para aceite esencial y otro para el extracto acuoso. Para ambos bioensayos se dejaron secando las hojas de cada una de las plantas de orégano colectadas a temperatura ambiente y a la sombra, una vez que el material vegetal fue secado las hojas se almacenaron en bolsas de papel.

Para realizar la extracción del aceite esencial se siguió el método de arrastre al vapor utilizando 100 g de hojas de *L. palmeri* durante 4 h con ayuda de un equipo Clevenger (Winzer®, USA). El aceite esencial fue separado de la fase acuosa por medio de decantación y posteriormente se le agregó

sulfato de sodio anhidro para eliminar la humedad del aceite esencial; ya extraído el aceite esencial se conservó en viales ámbar a -4 °C.

Para el extracto acuoso se pesaron 70 g de hoja seca, se colocaron en un vaso de precipitado con agua destilada y se agitó durante 24 h; posteriormente se filtró por gravedad y el filtrado fue liofilizado en un equipo (LABCONCO FreeZone, USA). El extracto acuoso restante no liofilizado fue conservado a -4 °C.

Análisis de cromatografía de gases/masas del aceite esencial y el extracto acuoso de orégano cultivado (*Lippia palmeri* W.)

La identificación y cuantificación de los compuestos que forman el aceite esencial y extracto acuoso se determinaron utilizando un cromatógrafo de gases (Agilent Technologies 7890, USA) acoplado a un espectrómetro de masas, cuadrupolo simple (Agilent 5975C, USA), con una fuente de ionización de impacto electrónico a 70 eV. Se utilizó una columna capilar HP-5MS UI de 30 m de longitud, 0.25 mm de diámetro interno y 0.25 µm de espesor de película, usando helio como gas portador, con un flujo de 1 mL/min. El modo de inyección fue en modo split en una relación de 100:1; el volumen de inyección fue de 1 µL; el aceite esencial y extracto acuoso liofilizado se diluyeron en una proporción 1:50, con metanol grado HPLC ≥ 99.9 %. Las temperaturas de la interfase y de la fuente fueron 150 °C y 200 °C respectivamente. El programa de temperatura inició a 50 °C por 5 min, seguidos de una rampa de calentamiento a razón de 8 °C/min hasta 300 °C, manteniendo esta temperatura por 5 min; el tiempo total de corrida fue de 41.25 min. La adquisición de los datos se llevó a cabo en modo *scan* en un rango de masas de 40 - 450 m/z. En el software de análisis de datos MSD ChemStation E.02.02.1431; la identificación de los compuestos se llevó a cabo por su espectro de masas utilizando el programa 5975TAD Data Analysis vinculado a la Librería NIST 2011.

Bioensayo de la actividad de aceites esencial y el extracto acuoso del orégano

Se utilizaron los aislados registrados en el GenBank, FONRB01 con número de acceso MW712740 de *Fusarium oxysporum* y el aislado GVQ01 con número de acceso MZ683160 de *Thanatephorus* sp., los cuales fueron aislados e identificados en el Laboratorio de Biología Molecular y el Laboratorio de Fitopatología del Departamento de Agricultura y Ganadería de la Universidad de Sonora.

Siguiendo la metodología utilizada por Barrera-Necha *et al.* (2008) los aceites esenciales y sus compuestos fueron disueltos con ayuda de tween 20, se mezclaron por medio de agitación en matraces con 250 mL de medio de cultivo PDA esterilizado; las dosis utilizadas de aceite esencial, previamente solubilizado en DMSO (dimetil-sulfóxido), fueron: 0, 100, 150, 200, 250 y 300 µL/mL, utilizando al compuesto timol en dosis de 100 y 300 µL/mL como control positivo y el propio medio PDA como control negativo. Para el extracto acuoso liofilizado se añadieron los polvos vegetales del orégano al

PDA en dosis de 0.10, 0.15, 0.20, 0.25 y 0.30 g, también para el extracto acuoso se utilizaron el timol y el PDA como controles; las diferentes concentraciones y sus controles se vaciaron en cajas Petri de 90 x 14 mm. Un disco de agar de 7.5 mm del cultivo del patógeno se colocó en el centro de cada caja con los tratamientos; todas las cajas Petri con tratamiento, se pasaron a una incubadora a 27 °C por 7 d para *Thanatephorus* sp. y 13 d para *F. oxysporum*. El crecimiento del micelio o diámetro de la colonia fue medido de forma diaria utilizando un vernier. Con los datos de diámetro de crecimiento se calculó el porcentaje de inhibición del crecimiento micelial con respecto al tratamiento testigo (C.M.R.T.) mediante la fórmula (Barrera-Necha, 2009):

$$\text{C.M.R.T. (\%)} = (\text{TCT-TcT/TCT}) \times 100$$

Donde: TCT = tasa de crecimiento en el testigo y TcT = tasa de crecimiento del tratamiento.

Análisis estadístico

El diseño fue de bloques completamente al azar. Los resultados del porcentaje de inhibición del crecimiento micelial fueron transformados con la raíz cuadrada de arcoseno y evaluados mediante un análisis de varianza de una vía de clasificación. Posteriormente se realizó una comparación de medias mediante la prueba de Tukey, usando el paquete estadístico JMP versión 5.0.1 (SAS Institute, 2002).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El aceite esencial del orégano cultivado presentó 38 compuestos. El componente que se encontró con mayor abundancia fue timol (32 %), seguido por cariofileno (21.7 %) que en conjunto constituyen el 53.7 % del total. Otros compuestos abundantes fueron carvacrol y o-cimeno (ambos 5.56 %), γ -terpineno (5.00 %), óxido de cariofileno (4.32 %), 4-tert-butylcatechol (2.47 %), 3-tert-butyl-4-metoxifenol (1.84 %), α -cariofileno (1.75 %), β -mirceno (1.36 %) y acetato de timol (1.31 %). El 22.69 % restante lo conformaron 26 compuestos que su contenido es en trazas desde 1.19 al 0.01 %. Estos resultados fueron comparados con el estudio realizado Ortega-Nieblas *et al.* (2011) en el que determinaron los componentes de *Lippia palmeri* proveniente de dos localidades silvestres ubicadas en Álamos y del Puerto del Orégano, Sonora; el del presente estudio mostró similitud en la presencia de compuestos con ambos aceites: α -pineno, α -felandreno, α -terpineno, o-cimeno, γ -terpineno, borneol, timol, carvacrol, cariofileno, alo-aromadendreno, β -bisaboleno, espatulenol. Algunos autores, concuerdan que los que contienen carvacrol, timol y o-cimeno, son los responsables de actividad insecticida, bactericida, fungicida y antiviral (Aligiannis *et al.*, 2001; Salgueiro, 2003; Radudiene, 2005; Camilo *et al.*, 2007; Bothelo *et al.*, 2007). Generalmente los estudios que se relacionan con la composición del aceite de orégano son enfocados en el *Origanum vulgare*, demostrando que el rendimiento y composición de estos se relacionan directamente con el estrés ambiental al que esté sometida la planta, su geolocalización y del método de extracción utilizada (Ávila *et al.*, 2010).

El cromatograma del extracto acusó del orégano cultivado, identificó 42 compuestos. El compuesto de porcentaje mayoritario fue timol (12.56 %), seguido del o-cimeno (11.58 %), furfural (9.25 %) y levoglucosano (5.49 %), conformando estos cuatro compuestos el 38.8 % del total. El resto fueron 38 compuestos con concentraciones bajas, entre los que se encuentra el ribotol (1.91 %), dimetil melato (1.67 %) y el ácido benzoico (1.52 %), conocidos por sus propiedades antimicrobianas y antifúngicas. Al igual que en el aceite esencial del orégano, en el extracto acuoso se encontraron compuestos que están registrados en la literatura con actividad biológica importante.

Actividad biológica de los aceites esenciales sobre *Fusarium oxysporum* y *Thanatephorus* sp.

Se establecieron las dosis del aceite esencial para inhibir a *F. oxysporum* y *Thanatephorus* sp. En los resultados obtenidos para *F. oxysporum* no se observaron diferencias significativas entre las dosis utilizadas ($p \leq 0.05$). Se obtuvieron resultados relevantes en los 5 tratamientos de aceite esencial del orégano al igual que con el carvacrol como control positivo, mostrando una fuerte actividad biológica en contra del hongo, al obtener una inhibición total e impedir el crecimiento micelial en cualquiera de sus dosis aplicadas. Estos resultados coinciden con lo reportado por Wogiatzi *et al.* (2009) quienes encontraron que los biotipos de *O. vulgare* ricos en timol y carvacrol inhibieron satisfactoriamente el crecimiento micelial de *F. oxysporum*. Los resultados encontrados en nuestra investigación son de gran relevancia, considerando la importancia de encontrar alternativas naturales para erradicar a *F. oxysporum*, ya que éste se encuentra entre los hongos fitopatógenos más importantes a nivel mundial por los daños causados en cultivos y que además puede afectar la salud humana (Dean *et al.*, 2012)

Para *Thanatephorus* sp. la dosis de 100 $\mu\text{L/mL}$ fue la que tuvo menor efecto de inhibición entre 90 y 93 %, pero a medida que se iba incrementado la dosis de aceite esencial, este tenía un control *in vitro* hasta llegar a un 99 y 100 % de inhibición en el transcurso de los 7 d (Figura 1), se encontraron diferencias significativas ($p \leq 0.05$) entre los tratamientos de 100 y 150 $\mu\text{L/mL}$ respecto a los demás. Con la tendencia en la baja del crecimiento micelial nos indica que a mayor cantidad de aceite esencial se tiene una mayor sensibilidad por parte de *Thanatephorus* sp. al tener una inhibición total en el crecimiento del micelio. Siramon *et al.* (2013) trabajaron de forma *in vitro* con el aceite esencial de eucalipto rojo contra *Chaetomium globosum*, *Fusarium oxysporum*, *Aspergillus niger*, *Thanatephorus cucumeris* y *Rhizopus oryzae*, este aceite esencial tuvo una inhibición inducida de entre el 84 y 100 % para *F. oxysporum* y *T. cucumeris*.

Actividad biológica de los extractos acuosos sobre *Fusarium oxysporum* y *Thanatephorus* sp.

Se observaron diferencias significativas ($p \leq 0.05$) en los tratamientos aplicados para la inhibición de *F. oxysporum* utilizando extracto acuoso del orégano, las dosis con mejor

resultado de 0.25 g y 0.30 g con una inhibición entre el 60 % y 90 % las dosis más bajas que fueron de 0.10 a 0.15 g inhibieron entre el 20 % y 60 % el crecimiento micelial (Figura 2); en otros estudios se han experimentado con extractos acuosos evaluando el potencial antifúngico, Jawadayn-Talib *et al.* (2020) probaron diferentes partes de hojas y raíces de *Chenopodium album* sobre *Alternaria alternata*, *Fusarium solani*, *Rhizoctonia solani*, *Pythium aphanidermatum* y *Sclerotinia sclerotium*, utilizando las concentraciones de 0, 5, 10 y 15 % de extracto de acuoso de hojas y raíces, concluyendo que este tenía una reducción significativa del crecimiento del micelio de hongos teniendo una inhibición entre el 15 y 100 %.

Al igual que con *F. oxysporum* se utilizó el extracto acuoso de *L. palmeri* para inhibir a *Thanatephorus* sp. (Figura 3) se pudo observar que en las primeras 24 h, fue cuando las dosis tuvieron mejor respuesta. La dosis de 0.30 g tuvo una inhibición entre 58 y 100 %, mientras que las dosis más bajas de 0.10 y 0.15 g inhibieron entre 10 y 38 % existiendo diferencias significativas entre los tratamientos, los controles positivos y negativo. Se ha experimentado con extractos metanólicos de *L. tridentata* y *Flourensia cernua* sobre *R. solani* donde se inhibió entre el 100 % y 85 % respectivamente indicando que sí es posible controlar el desarrollo de hongos fitopatógenos con extractos vegetales (López-Benítez, 2005; Rodríguez-Castro *et al.*, 2020).

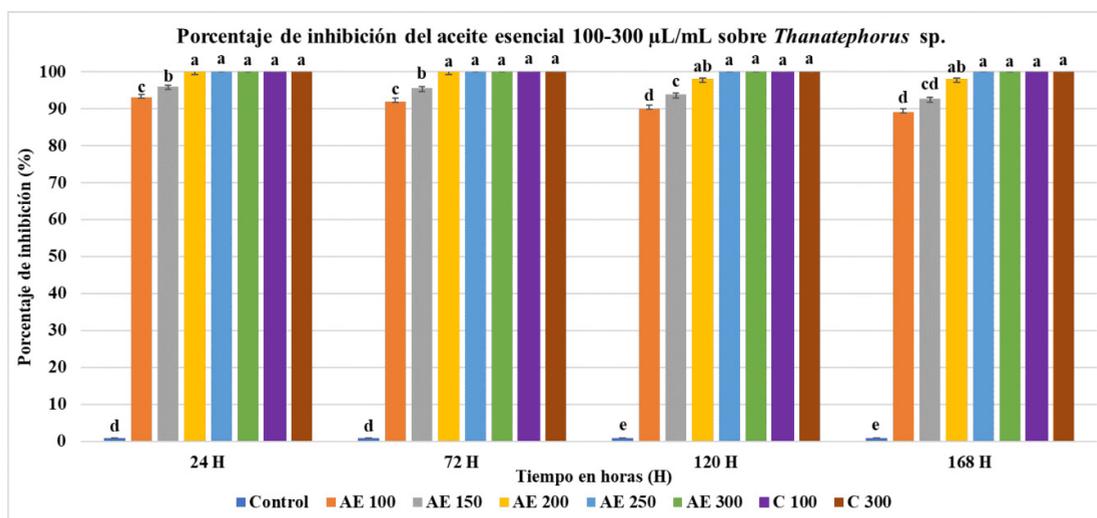


Figura 1. Actividad antifúngica del aceite esencial de *L. palmeri* en dosis de 100, 150, 200, 250 y 300 µL/mL; como control positivo carvacrol 100 y 300 µL/mL, expresada en porcentaje de inhibición del crecimiento del hongo *Thanatephorus* sp. prueba de medias entre las diferentes concentraciones ($p \leq 0.05$).

Figure 1. Antifungal activity of the essential oil of *L. palmeri* at dose of 100, 150, 200, 250 and 300 µL/mL; as a positive control Carvacrol 100 and 300 µL/mL expressed as a percentage of inhibition of the growth of the fungus *Thanatephorus* sp. test of means between the different concentrations ($p \leq 0.05$).

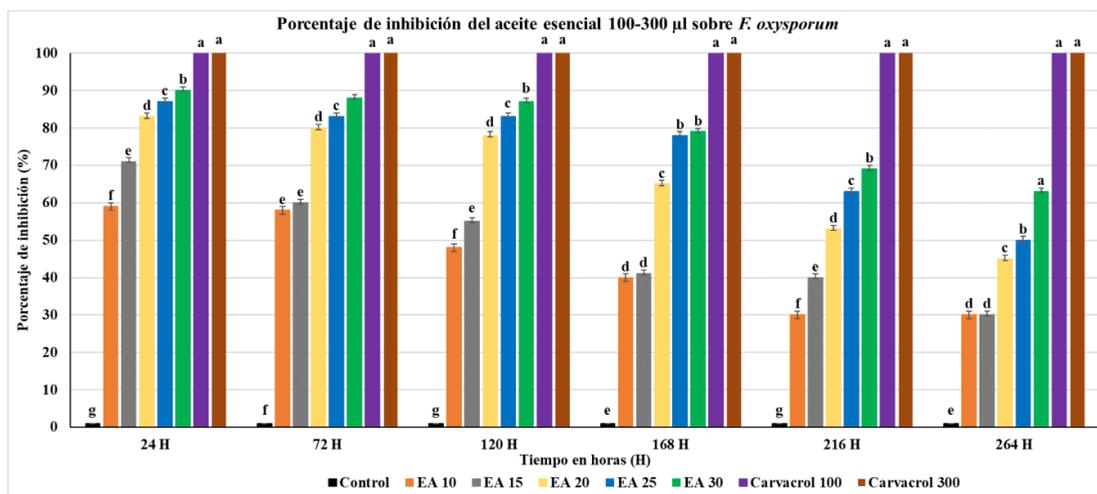


Figura 2. Actividad antifúngica del extracto acuoso liofilizado de *L. palmeri* en dosis de 0.10, 0.15, 0.20, 0.25 y 0.30 g en 250 mL de PDA; como control positivo carvacrol 100 y 300 µL/mL expresada en porcentaje de inhibición del crecimiento del hongo *F. oxysporum*. prueba de medias entre las diferentes concentraciones ($p \leq 0.05$).

Figure 2. Antifungal activity of the lyophilized aqueous extract of *L. palmeri* at dose of 0.10, 0.15, 0.20, 0.25 and 0.30 g in 250 mL PDA; as a positive control Carvacrol 100 and 300 µL/mL expressed as a percentage of inhibition of the growth of the fungus *F. oxysporum*. test of means between the different concentrations ($p \leq 0.05$).

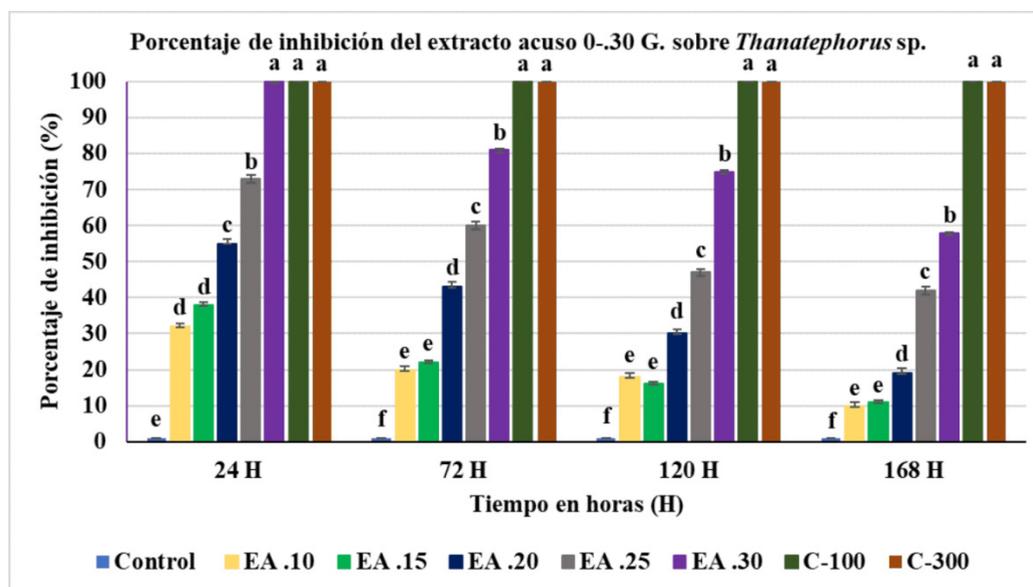


Figura 3. Actividad antifúngica del extracto acuoso liofilizado de *L. palmeri* en dosis de 0.10, 0.15, 0.20, 0.25 y 0.30 g en 250 mL PDA, expresada en porcentaje de inhibición del crecimiento del hongo *Thanatephorus* sp. Prueba de medias entre las diferentes concentraciones ($p \leq 0.05$).

Figure 3. Antifungal activity of the lyophilized aqueous extract of *L. palmeri* at concentrations of 0.10, 0.15, 0.20, .025 and 0.30 g in 250 mL PDA, expressed as a percentage of inhibition of the growth of the fungus *Thanatephorus* sp. test of means between the different concentrations ($p \leq 0.05$).

En diversas investigaciones se le atribuye el efecto antifúngico al terpeno timol y a su isómero el carvacrol que se encuentran en los aceites esenciales y extractos acuosos en especies como *O. vulgare*, *L. alba*, *L. berlandieri* y *L. graveolens*. Se ha reportado que estos compuestos pueden afectar al hongo al alterar su estructura morfológica, retrasando y reduciendo el desarrollo al producir lisis entre la membrana y pared celular del hongo (Kordal *et al.*, 2008). Al tener contacto la membrana con el aceite esencial se da una pérdida de la integridad de la membrana y una disminución en la cantidad de ergosterol compuesto principal que forma la membrana de los hongos, así como una respuesta inhibitoria a la formación de la pared (Shreaz, 2016). Por último, igualmente se ha señalado que la expresión de algunos genes pudiera verse afectada de forma negativa, especialmente, aquéllos involucrados en los procesos de la adhesión, desarrollo, dimorfismo y la reproducción de esporas del hongo (D'agostino, 2019).

4. CONCLUSIONES

La cromatografía de gases/masas permitió caracterizar químicamente al aceite esencial y el extracto acuoso a partir de hojas de *Lippia palmeri* W, y evaluar su efecto antifúngico *in vitro*, contra hongos de importancia agrícola a nivel mundial. Los resultados evidenciaron que las dos especies de fitopatógenos *F. oxysporum* y *Thanatephorus* sp. fueron inhibidos *in vitro* por el aceite esencial y extracto acuoso del orégano *L. palmeri* W., la velocidad de crecimiento micelial de *Fusarium oxysporum* y *Thanatephorus* sp. se redujo acorde al aumento de las concentraciones utilizadas. La actividad biológica de *L. palmeri* puede jugar un importante papel actuando como bioplaguicida contra hongos fitopatógenos que habitan en

el suelo gracias a sus componentes identificados tales como: timol, carvacrol, cariofileno y o-cimeno.

5. AGRADECIMIENTOS

Fusarium oxysporum strain RB001 was kindly provided by Dr. Irene Ileana Ramirez Bustos.

6. REFERENCIAS

- Aliγιannis, N., Kalpoutzakis, E., Mitaku, S. y Chinou, I. 2001. Composition and antimicrobial activity of essential oils of two *Origanum* species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 49: 4168-4170. DOI: 10.1021/jf001494m
- Alkoorane, J. T., Al-khshemawee, H. H., Kadhim Al-badri, M. A., Al-srai, M. S. y Daweri, H. H. 2020. Antifungal activity and GC-MS detection of leaves and roots parts of *Chenopodium album* extract against some phytopathogenic fungi. *Indian Journal of Agricultural Research*. 54: 117-121. DOI: 10.18805/IJARE.A-433
- Almandoz, J.E., Pico, V., Pérez, L., Rodríguez, F. y Parra, J. 2000. Efectividad de nuevos fungicidas para el control de *Alternaria solani* Ellis y Martin en el cultivo de la papa (*Solanum tuberosum* L.). XIX Congreso de la Asociación Latinoamericana de la Papa (ALAP). La Habana.
- Barrera-Necha, L. L. y García-Barrera, L. J. 2008. Actividad antifúngica de aceites esenciales y sus compuestos sobre el crecimiento de *Fusarium* sp. aislado de papaya (*Carica papaya*). *Revista Científica UDO Agrícola*. 8(1): 33-41. ISSN-e 1317-9152
- Camilo, D.E., Luz, A.M., Martínez, J.R. y Stashenko, E. 2007. Estudio comparativo de la composición química de aceites esenciales de *Lippia alba* provenientes de diferentes regiones de Colombia, y efecto del tiempo de destilación sobre la composición del aceite. *Scientia et Técnica*. 3: 435-438. ISSN: 0122-1701

- Cantrell, C.L., Dayan, F.E. y Duke, S.O. 2012. Natural products as sources for new pesticides. *Journal of Natural Products*. 75(6): 1231-1242. DOI: 10.1021/np300024u
- Corella-Bernal, R.A., Ortega-Nieblas, M.M., Robles-Burgueño, M.R., Borboa-Flores J. y McCaughey-Espinoza, D. 2008. El cultivo de orégano *Lippia palmeri* Watson, en el estado de Sonora. 3era. Reunión Nacional sobre el Orégano, 22 al 24 de agosto; Saitillo, Coah., México.
- D'agostino, M., Tesse, N., Frippiat, J.P., Machouart, M. y Debourgogne, A. 2019. Essential oils and their natural active compounds presenting antifungal properties. *Molecules*. 24(20): 3713. DOI:10.3390/molecules24203713
- Dean, R., Van Kan, J.A.L., Pretorius, Z.A., Hammond-Kosack, K.E., Di Pietro, A., Spanu, P.D. y Foster, G.D. 2012. The Top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology. *Molecular Plant Pathology*. 13(4): 414-430. DOI: 10.1111/j.1364-3703.2011.00783.x
- Fernández-Herrera, E., Uribe-Rivera, S.E., Guerrero-Ruiz, J.C., y Rueda-Puente, E.O. 2013. Hongos fitopatógenos asociados a pudriciones de raíz y cuello en sandía en la costa de Hermosillo, Sonora. Producción y protección de cultivos Bajo un escenario de cambio climático. XVI Congreso Internacional de Ciencias Agrícolas. DOI: 10.15446/ga.v24nSupl3.95526
- Marín-Tinoco R.I., Silva-Marrufo. O. y Gonzales-Güereca, M.C. 2019. Physical Characterization Chemistry of Essential Oil of Oregano in 6 Communities of the Municipality of Rodeo, Dgo. *Journal-Urban-Rural and Regional Economy*. 3(5): 18-23. DOI:10.35429/JURRE.2019.5.3.18.23
- Marín-Tinoco, R.I., Camacho-Luis, A., Silva-Marrufo, O., Diaz-Diaz, M, y Ortega-Ramírez, A.T. 2021. Inhibition of *Candida albicans* by oregano (*Lippia* spp.) essential oil from Municipality of Rodeo, Durango, Mexico. *Journal of Microbiology & Amp; Health Education*. 3(1): 70-76. Retrieved from <http://journalmhe.org/ojs3/index.php/jmhe/article/view/14>
- Martínez-Romero, D., Serrano, M., Bailén, G., Guillén, F., Zapata, P.J., Valverde, J.M., Castillo, S., Fuentes, M. y Valero, D. 2008. The use of a natural fungicide as an alternative to preharvest synthetic fungicide treatments to control lettuce deterioration during postharvest storage. *Postharvest Biology and Technology*. 47(1): 54-60.
- Meza-Möller, A.C., Rentería-Martínez, M.E., Guerra-Camacho, M., Romo-Tamayo, F., Ochoa-Meza, A. y Moreno-Salazar, S.F. 2014. First report of root rot of watermelon caused by *Ceratobasidium* sp in Sonora, Mexico. *Plant Disease*. 98(6): 847. DOI:10.1094/PDIS-09-13-0974-PDN
- Ortega-Nieblas, M.M., Robles-Burgueño, E., Acedo-Félix, A., González-León, A., Morales-Trejo, A. y Vázquez-Moreno, L. 2011. Chemical composition and antimicrobial activity of oregano (*Lippia palmeri* Wats) essential oil. *Revista Fitotecnia Mexicana*. 34(1): 11-17.
- Padilla, E., Esqueda, M., Sánchez, A., Troncoso-Rojas, R. y Sánchez, A. 2006. Efecto de biofertilizantes en cultivo de melón con acolchado plástico. *Revista Fitotecnia Mexicana*. 29 (4): 321-329.
- Radudiene, J., Judpintiene, A., Peiulyte, D. y Janulis, V. 2005. Chemical composition of essential oil and antimicrobial activity of *Origanum vulgare*. *BIOLOGIJA*. 4: 53-58.
- Ramírez, S. M., Álvarez, B. A., Valenzuela, H.V., Ortega, M. P. F., Fierros, L. G. A. y Padilla. V. 2012. Detección de hongos asociados a la "rabia del garbanzo", en la zona norte de Sinaloa. Memorias XV Congreso Internacional de Ciencias Agrícolas, 25 y 26 octubre 2012; Universidad Autónoma de Baja California, Mexicali. 707-713 pp.
- Rivera, J.M.N. 2009. Marchitez del chile poblano (*Capsicum annuum* L.): identificación molecular del agente causal, detección en semillas, histopatología y alternativas de control. Tesis doctoral. Colegio de Postgraduados, Texcoco, México. http://colposdigital.colpos.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/10521/1302/Rivera_Jimenez_MN_DC_Produccion_Semillas_2009.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Rodríguez-Castro, A., Torres-Herrera, S., Domínguez-Calleros, A., Romero-García, A. y Silva-Flores, M. 2020. Extractos vegetales para el control de *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani* y *Rhizoctonia solani*, una alternativa sostenible para la agricultura. *Abanico Agroforestal*. 2: 1-13. DOI: 10.37114/abaagrof/2020.7
- Romero-Bastidas, M., Reyes-Pérez, J.J., Mayer-Félix, E.A., Hernández-Rubio, J.S., Arce-Amezquita, P.M. y Hernández-Montiel, L.G. 2020. Efectividad del extracto etanólico de *Lippia palmeri* Watson para el manejo de *Fusarium* spp. en semillas de garbanzo. *Rev. Fac. Agron*. 37: 368-386. DOI: 10.47280/RevFacAgron(LUZ).v37.n4.03
- Ruiz, C., Díaz, C. y Rojas, R. 2015. Composición química de aceites esenciales de 10 plantas aromáticas peruanas. *Revista de la Sociedad Química del Perú*. 81(2): 81-94. ISSN 1810-634X
- Salgueiro, L.M, Cavaleiro, A, y Goncalves, C. 2003. Antimicrobial activity and chemical composition of essential oil of *Lippia graveolens* from Guatemala. *Planta Médica*. 69: 80-83. DOI: 10.1055/s-2003-37032
- Sayuri, I., Duarte, M., Carmignani, P., Pulcinelli, C. y Machado, M. 2018. Effect of fungal incidence on physiological quality of tobacco seeds used in Brazil. *Arq. Ins. Biol*. 85: 1-6. DOI: 10.1590/1808-1657000352017
- Shreaz, S., Shiekh, R.A., Raja, V., Wani, W.A. y Behbehani, J.M. 2016. Impaired ergosterol biosynthesis mediated fungicidal activity of Co(II) complex with ligand derived from cinnamaldehyde. *Chem. Biol. Interact*. 247: 64-74. DOI: 10.1016/j.cbi.2016.01.015
- Silva-Marrufo, O., y Marín-Tinoco, R. I. 2021. Sustituto de fungicidas químicos sintéticos con aceite esencial de orégano para el control del *Fusarium oxysporum*. *Gestión y Ambiente*, 24(Supl3), 73-80. DOI: 10.15446/ga.v24nSupl3.95526
- Silva-Rojas, H.V., Fernández-Pavia, S.P., Góngora-Canul, C., Macías-López, B. C. y Ávila-Quezada, G.D. 2009. Distribución espacio temporal de la marchitez del chile (*Capsicum annuum* L.) en Chihuahua e identificación del agente causal *Phytophthora capsici*. *Revista Mexicana de Fitopatología*. 27(2): 134-147.
- Siramon, P., Ohtani Y. y Ichiura, H. 2013. Chemical composition and antifungal property of *Eucalyptus camaldulensis* leaf oils from Thailand. *Records of Natural Products*. 7 (1): 49-53. DOI: 10.15446/ga.v24nSupl3.95526
- Stashenko, E.E. 2009. Aceites esenciales. Primera edición. *UIS-CENIVAM*. Bucaramanga, Colombia. ISBN: 978-958-44-5944-2
- Wangkhem, B., Rana, M. y Jackson, K. 2019. Exploring the control measures of white rust-organic amendments, botanicals, biocontrol agents and chemicals. *J. Pharmacogn. Phytochem*. 8(3): 4413-4419. ISSN: 2278-4136
- Wogiatzi, E., Gougoulis, N., Papachatzis, A., Vagelas, I. y Chouliaras, N. 2009. Chemical composition and antimicrobial effects of greek *Origanum* species essential oil. *Biotechnology y Biotechnological Equipment*. 23(3): 1322-1324. DOI: 10.1080/13102818.2009.10817662