

DEPÓSITO LEGAL ZU2020000153

ISSN 0041-8811

E-ISSN 2665-0428

Revista de la Universidad del Zulia

Fundada en 1947
por el Dr. Jesús Enrique Lossada



Ciencias
Exactas,
Naturales
y de la Salud

75

ANIVERSARIO

Año 13 N° 37

Mayo - Agosto 2022

Tercera Época

Maracaibo-Venezuela

Efecto del aceite esencial de *Lippia graveolens* en el control biológico de *Fusarium chlamydosporum*

Jesús Di Carlo Quiroz Velásquez *
Guadalupe C. Rodríguez Castillejos **
Israel García León ***
Cristian Lizarazo Ortega ****
Jesús G. García Olivares *****
J. Luis Hernández Mendoza *****

RESUMEN

Los aceites esenciales se caracterizan por presentar olor, sabor y muchas veces propiedades antifúngicas; son producidos por plantas aromáticas y medicinales. Es importante determinar qué efecto tienen los aceites esenciales de *L. graveolens* en el control de fitopatógenos. Se realizó la evaluación del aceite esencial de *Lippia graveolens* sobre el hongo *Fusarium chlamydosporum*, que tiene alta incidencia, reduce la productividad y puede afectar al humano. La extracción de los aceites se realizó en etanol absoluto. De la biomasa se realizó la extracción de DNA y se hizo una PCR utilizando los oligonucleótidos ITS1 e ITS4. El hongo se confrontó en cajas de petri con los aceites esenciales de *L. graveolens*. Se observó menor crecimiento de *Fusarium* sp, en la muestra Viad 01, con 1.23 cm de crecimiento; mientras que en el testigo se obtuvo una colonia de 4.60 cm, lo cual representa una diferencia de 3.37 cm con respecto a la muestra Viad 01. Lo anterior muestra que los extractos de *Lippia graveolens* pueden ser una alternativa para el control de enfermedades innovando para la agricultura sostenible y competitiva, además de su uso potencial en salud humana.

PALABRAS CLAVE: Antagonismo, extractos etanólicos, antibiosis, bioensayos, ensayos *in vitro*.

* Laboratorio de Biotecnología Experimental - Centro de Biotecnología Genómica del Instituto Politécnico Nacional. Reynosa, Tamaulipas, México. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6021-0427>. E-mail: jquiroz@ipn.mx

** Universidad Autónoma de Tamaulipas, Unidad Académica Multidisciplinaria Reynosa Aztlán. Programa Académico: Licenciatura en Nutrición y Ciencia de los Alimentos. Reynosa, Tamaulipas, México. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0205-9340>. E-mail: gcastillejos@uat.edu.mx

*** Universidad Autónoma de Tamaulipas, Unidad Académica Multidisciplinaria Reynosa Aztlán. Programa Académico: Licenciatura en Nutrición y Ciencia de los Alimentos. Reynosa, Tamaulipas, México. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7876-1219>. E-mail: igarcial@ipn.mx

**** Laboratorio de Biotecnología Experimental - Centro de Biotecnología Genómica del Instituto Politécnico Nacional. Reynosa, Tamaulipas, México. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0010-9386>. E-mail: clizarazu@ipn.mx

***** Laboratorio de Biotecnología Experimental - Centro de Biotecnología Genómica del Instituto Politécnico Nacional. Reynosa, Tamaulipas, México. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3826-2968>. E-mail: jggarcia@ipn.mx

***** Laboratorio de Biotecnología Experimental - Centro de Biotecnología Genómica del Instituto Politécnico Nacional. Reynosa, Tamaulipas, México. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1233-0133>. E-mail: jhernandezm@ipn.mx

Recibido: 16/02/2022

Aceptado: 06/04/2022

Effect of the essential oil of *Lippia graveolens* in the biological control of *Fusarium chlamydosporum*

ABSTRACT

Essential oils are characterized by having smell, flavor and often antifungal properties; They are produced by aromatic and medicinal plants. It is important to determine what effect the essential oils of *L. graveolens* have in the control of phytopathogens. The evaluation of the essential oil of *Lippia graveolens* was carried out on the fungus *Fusarium chlamydosporum*, which has a high incidence, reduces productivity and can affect humans. The extraction of the oils was carried out in absolute ethanol. DNA extraction was performed from the biomass and a PCR was performed using the oligonucleotides ITS1 and ITS4. The fungus was confronted in petri dishes with the essential oils of *L. graveolens*. Lower growth of *Fusarium* sp was observed in the Viad 01 sample, with 1.23 cm of growth; while in the control a colony of 4.60 cm was obtained, which represents a difference of 3.37 cm with respect to the Viad 01 sample. This shows that *Lippia graveolens* extracts can be an alternative for disease control by innovating for the sustainable and competitive agriculture, in addition to its potential use in human health..

KEYWORDS: Antagonism, ethanolic extracts, antibiosis, bioassays, in vitro assays.

Introducción

El género de *Fusarium* sp está representado por hongos fitopatógenos, y se encuentran ampliamente distribuidos en diversos ambientes, de ahí su importancia económica. Estos hongos en ocasiones causan infecciones en un paciente normal (queratitis, onicomycosis, etc.). Sin embargo, cada vez se describen más infecciones graves en los pacientes inmunodeprimidos; de ahí que su importancia haya crecido exponencialmente. Dentro de las infecciones causadas por el género *Fusarium* se incluyen las hialohifomicosis, las cuales son causadas por hongos oportunistas que presentan hifas hialinas septadas. Su amplia distribución se atribuye a su capacidad para crecer en gran número de substratos y a su eficaz mecanismo de dispersión; el viento y la lluvia juegan un importante papel en su diseminación. Se ha demostrado que el aire puede llevar las esporas hasta 400 km de distancia.

En 1973 se describe la primera infección diseminada en un paciente con leucemia aguda. Al igual que ocurre con el género *Aspergillus*, es probable que este contacto se produzca por inhalación de las esporas, que se encuentran de forma habitual en el aire. Para el control de *Fusarium* sp se ha utilizado ampliamente el control químico, siendo útil para el control de patógenos (Rubio y col., 2008). Sin embargo, este ha sido empleado de forma indiscriminada, lo cual ha repercutido en efectos indeseables como la contaminación ambiental y con la consecuente adquisición de resistencia de los hongos patógenos a dichos químicos, así como sus elevados costos, por lo cual se ha recurrido a métodos alternativos para el control de enfermedades, como son el empleo de nuevos compuestos derivados de fuentes vegetales como aceites esenciales y extractos vegetales, ya que son más seguros para los consumidores y el ambiente, así como su uso eficiente contra patógenos resistentes a plaguicidas y enfermedades poscosecha (Montes, 2009).

Por otra parte, el aceite esencial de *L. graveolens* ha demostrado tener actividad bactericida contra especies de *Vibrio* (Paredes-Aguilar y col., 2007), *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Bacillus cereus* (Avila-Sosa y col., 2010); y actividad antifúngica o antimicótica, según el caso, frente a *Fusarium* spp., como lo muestra el trabajo de Velluti y col. (2004). Diferentes especies de *Fusarium* se caracterizan por causar infecciones en plantas y humanos, tanto superficiales como sistémicas llamadas en general fusariosis; y es un riesgo para la población que está en contacto considerable con la microbiota del suelo o aquella que sufre algún traumatismo, causando queratomycosis, onicomycosis, e infecciones cutáneas causadas por *Fchlamydosporum*.

En este trabajo de investigación se realizaron ensayos con los aislamientos obtenidos de *Lippia* sp., en el municipio de Reynosa (Tamaulipas), frente a *Fchlamydosporum*, nativo de la región, para evaluar el potencial del aceite esencial del orégano mexicano como un importante inhibidor, así como un agente potencialmente fungicida para *Fusarium* sp., y de esta manera ayudar a disminuir el uso de agroquímicos, para controlar este problema, tanto en espacios abiertos como cerrados; ya que desafortunadamente estos no son fácilmente biodegradables, y tienden a persistir durante años en el medio ambiente, y algunos hongos desarrollan resistencia a ellos. Por

lo que el objetivo del presente estudio fue la evaluación de *L. graveolens* nativo de Reynosa Tamaulipas en el control de *Fusarium* sp.

1. Materiales y métodos

1.1. Aislamiento y obtención de *Fusarium* sp.

Se procesaron muestras de suelo de la rizósfera de sorgo (*Sorghum* spp.). El aislamiento se realizó en medio de cultivo agar papa dextrosa (PDA), para ello se seleccionó la colonia que presentara las características morfológicas de *Fusarium* sp., entre las que se destacan: la morfología, la forma, el color y el crecimiento de la colonia.

Los aislados de *Fusarium* sp., se multiplicaron en matraz con 50 mL de caldo LB (Luria-Bertani, Difco®), incubados a 27 °C y 200 rpm. El cultivo de 72 h de crecimiento se centrifugó para obtener la biomasa.

1.2. Extracción de DNA genómico

Se siguió el método modificado de Hoffman y Wriston (1987), en el cual la biomasa obtenida es centrifugada en una microcentrifuga (Spectrafuge™ 16M, 18 x 1.5ml rotor, 120V, Standard Gray, Edison, NJ) y lavada con agua desionizada estéril, posteriormente el sobrenadante fue desechado. La biomasa se resuspendió en 0.2 mL de solución de lisis (tritón X-100, 2 %; SDS, 1 %; NaCl, 0,1 M; Tris-HCl pH 8, 10 mM y EDTA 1 mM) y se le añadieron 0.2 mL de fenol-cloroformo (1:1) y 0.3 g de perlas de vidrio (ballotini) de 0.45 mm de diámetro. El tubo donde se trató la biomasa se agitó en vortex durante 1 min, después se colocó en hielo por 1 min y se repitieron estos dos pasos en tres ocasiones; posteriormente se añadió 0.2 ml de TE 10:1 (Tris 10 mM y EDTA 1 mM) y se centrifugó durante 10 min a 12 000 RPM a 4 °C. La fase acuosa se transfirió a un tubo nuevo al cual se le añadieron 10 µL de RNAasa. Posteriormente se incubó a 37 °C por 15 min. Enseguida se agregaron 10 µl de acetato de amonio (NH₄C₂H₃O₂ 4 M) y 1 mL de etanol (C₂H₅OH) al 100 %; se dejó reposar por 15 min a -20 °C, se centrifugó a 12 000 rpm por 5 min a 4 °C. El sobrenadante se desechó y se lavó el sedimento con 100 µL de etanol al 70 %, se centrifugó nuevamente para eliminar la fase acuosa y se secó el precipitado a 55 °C durante 5 min. El DNA obtenido se resuspendió en 40 µL de TE 10:1 y se mantuvo a -20°C hasta su uso.

Una vez que se extrajo el DNA se visualizó en gel de agarosa al 1 % y se adicionó 0.1 µL de syber gold. Para ello se depositó 1 µL de cada muestra en el gel y se corrió en una cámara de electroforesis horizontal (BIORAD, ®) a 100 v por 50 min, usando una fuente de poder EC105. Se observó el gel en el transiluminador de luz ultravioleta y se captó la imagen del gel con el programa Kodak digital Science® ID.

1.3. Amplificación ITS

Las reacciones de PCR se realizaron en un volumen final de 50 µL. Se utilizó 1 µL del ADN genómico, 5 µL de Buffer 10X (concentración final a 1X), 1.5 µL de cloruro de magnesio de 50 mM (final 3 mM), 1 µL de dNTPs 10 mM (0.2 mM), 1 µL de cada uno de los iniciadores 5 µM (final 0.1 µM) y 0.4 µL de la enzima Taq DNA polimerasa y se adicionó agua milliQ estéril hasta alcanzar el volumen de 50 µL. El programa de amplificación que se utilizó consistió en 1 ciclo de 3 min a 94 °C y 35 ciclos de 1 min a 94 °C, 1 min a 53 °C y 1 min a 72 °C. Por último, se realizó una extensión final de 1 min a 72 °C y se procedió a visualizarla en un gel de agarosa al 1 %, se adicionó 0.1 µL syber gold y 0.4 µL de orange. Se depositaron 5 µL de cada muestra en el gel y se corrió en una cámara de electroforesis horizontal (Bio- Rad®, Sub-Cell® GT Cell, California, U.S.A.) a 80 volts por 1 h. Las reacciones de PCR se llevaron a cabo en un termociclador Peltier MJ Research® y los geles se trataron como ya se mencionó con anterioridad.

1.4. Secuenciación

Los productos de PCR, en una concentración de 50 ng, fueron tratados en el secuenciador (Applied Biosystems™, modelo 3130® Waltham, MA USA). Para la identificación a nivel de especie, se empleó el primer de ITS 1 Forward (5'TCCGTAGGTGAACCTGCGG3'), las secuencias obtenidas fueron comparadas con las secuencias de referencia de la base de datos del NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) y se asignó la especie de *F chlamydosporum*, de acuerdo a los niveles de concordancia.

1.5. Obtención de extractos etanólicos

La cuantificación de Carvacrol (actividad fungicida) para llevar a cabo el análisis de capacidad antimicrobiana fue de 100 ppm, realizada mediante HPLC (Figura 1).

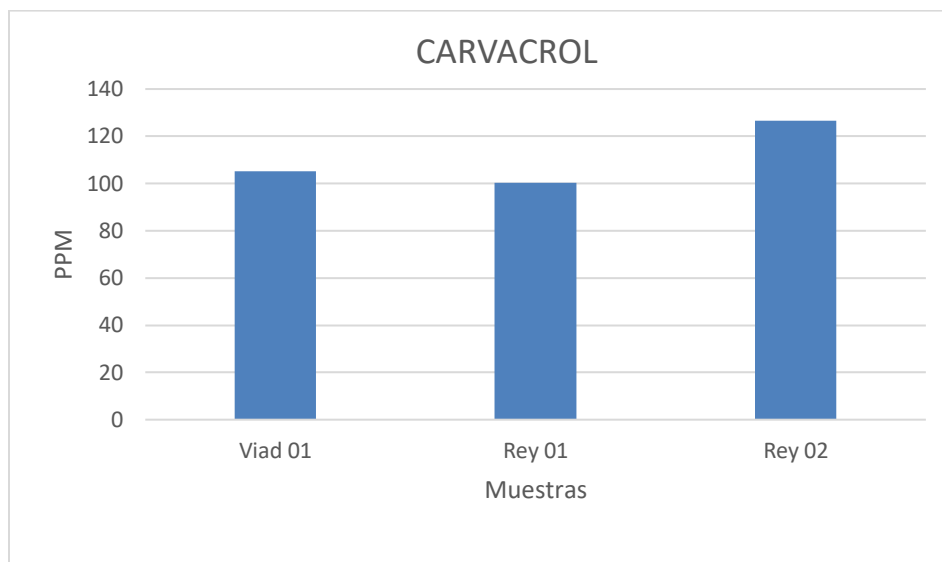


Figura 1: Cuantificación de Carvacrol (100 ppm) en HPLC

1.6. Fase *in vitro*

Se procedió a preparar agar papa dextrosa (PDA) en cajas de Petri para sembrar la cepa por triplicado de *Fusarium* sp a una temperatura de 28 °C por 48 h, la cual será usada para medir el halo de inhibición del crecimiento frente a los extractos de orégano mexicano.

1.7. Tratamientos

Se evaluaron 6 tratamientos de extractos de *Lippia* spp., frente a *Fusarium* sp.

T1= Testigo

T2= Timol

T3= Carvacrol

T4= Rey 01

T5= Rey 02

T6= Viad 01

Después de obtener el extracto etanólico de *L. graveolens*, se mezcló de acuerdo al tratamiento con el PDA, homogenizando y vertiendo en las cajas de Petri.

1.8. Diseño Experimental

Para *Fusarium* sp., se utilizó un diseño completamente al azar con 6 tratamientos y 3 repeticiones.

1.9. Variables de Respuesta

a) **Crecimiento:** La cual se define como el diámetro de crecimiento en centímetros de cada uno de los patógenos. Esta variable se midió durante 10 d.

b) **Eficiencia:** La cual se define en términos porcentuales como la inhibición en el crecimiento de *Fusarium* sp., respecto al testigo y como consecuencia del efecto antifúngico del aceite esencial de *L. graveolens*. Matemáticamente se calculó de acuerdo a:

$$E(\%) = \frac{C_{\text{Testigo } j} - C_{\text{Tratamiento } i, j}}{C_{\text{Testigo } j}} \times 100$$

Dónde:

E (%): Eficiencia del Tratamiento i en el control del crecimiento del patógeno en el día j; siendo i= 100 PPM

Mientras que j= 1, 2, 3,..., 10 d.

C_{Tratamiento, i, j}: Crecimiento del tratamiento i en el día j.

C_{Testigo j}: Crecimiento del testigo en el día j.

1.10. Forma de Análisis

Se realizó análisis de varianza y se utilizó la prueba múltiple de promedios de Tukey cuando se detectó efecto de tratamientos. Para el procesamiento de los datos se utilizó el software SAS en su versión 9.2.

2. Resultados y Discusión

Las secuencias de los fragmentos de 520 pb de la región ITS amplificada de *Fusarium* sp., se visualizaron y analizaron con el programa CLC Sequence Viewer 7.6[®], en donde también se puede apreciar que la secuencia cuenta con tres sitios para enzimas de restricción (EcoRI, SmaI y PstI) que pueden ser de utilidad para discriminar de otras cepas de *Fusarium* por medio de la técnica de Polimorfismos en la Longitud de los Fragmentos de Restricción (RFLP's) (Figura 2).

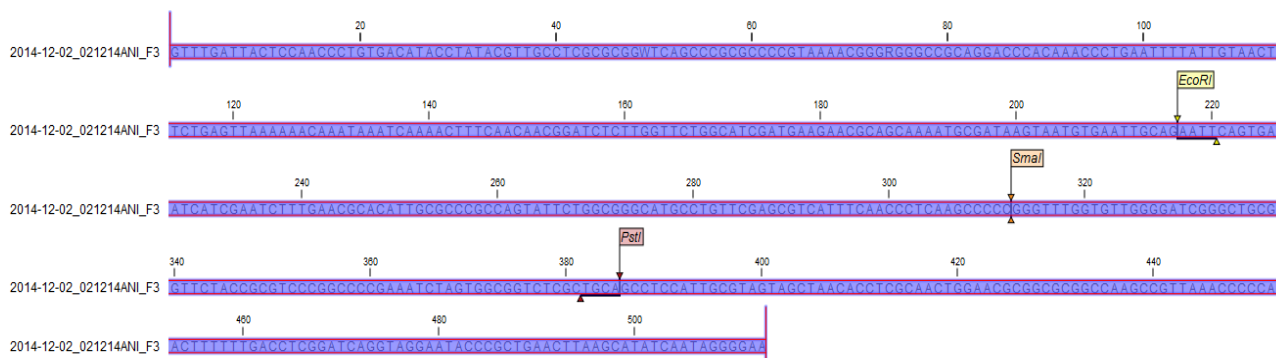


Figura 2. Análisis de la secuencia nucleotídica de *Fusarium* sp., con el programa CLC 7.6[®]

Posteriormente con la herramienta BLAST[®] del NCBI[®] se realizaron los alineamientos para la búsqueda del género y especie de la muestra de *Fusarium* sp (Figura 3), dando como resultado *Fusarium chlamydosporum*, con un 97 % de identidad y cobertura del 98 %.

2.1. Efecto del Aceite Esencial de *Lippia graveolens* sobre el crecimiento de *Fusarium chlamydosporum*

Numerosos estudios *in vitro* de productos vegetales, como lo son los extractos contra distintos patógenos (Mihaliak y col., 1991), han mostrado actividad comparable con antibióticos o antifúngicos (Wilson y col., 1997); dependiendo del microorganismo a evaluar. Los extractos vegetales de *Lippia* sp., han demostrado tener efecto en la inhibición de *Fusarium oxysporum* (Araujo y col., 2008), demostrándose la posibilidad de uso de estas plantas para el control biológico de otros patógenos.

En el presente estudio, la capacidad antifúngica del aceite esencial de orégano sobre el desarrollo de *F. oxysporum*, quedó demostrada en medio sólido; el extracto etanólico de *Lippia*

graveolens, demostró tener efecto inhibitorio a una concentración de 100 ppm. Estos resultados difieren en cuanto a lo investigado por García-Camarillo y col., (2006), donde se observó que la concentración de 2 000 ppm inhibió la producción de aflatoxinas y la concentración de 100 ppm la incrementó, lo cual pudo haberse debido de acuerdo al autor, a que se pierde la actividad protectora y la capacidad de inhibición del crecimiento del hongo, y por tanto se presenta la producción de aflatoxinas.

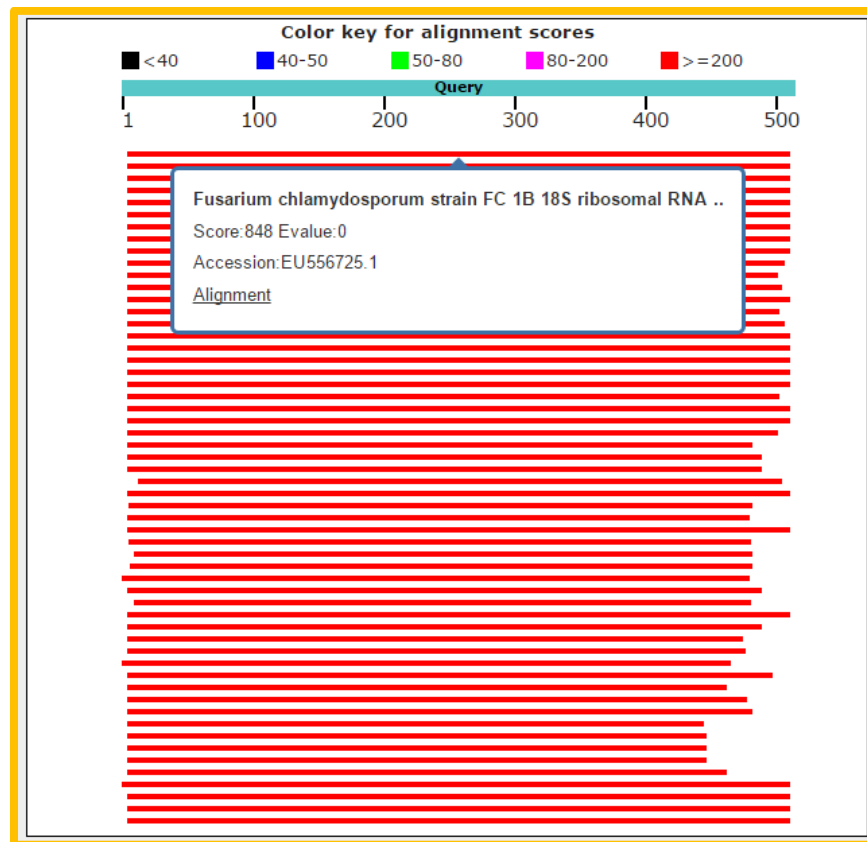


Figura 3. Alineamiento de la secuencia nucleotídica de *fusarium* sp., con la herramienta BLAST® del NCBI®

El efecto antimicrobiano del orégano se atribuye a la presencia en el aceite esencial de diversos componentes, entre los que se encuentran carvacrol y timol. Dichos compuestos se han evaluado de manera independiente y han demostrado ser efectivos agentes antibacterianos y antifúngicos. Por medio de la técnica de difusión en placa, carvacrol inhibe 24 diferentes bacterias (zonas de inhibición de 14.1 mm-45.3 mm de diámetro) que incluyen patógenos de

plantas, animales y bacterias, que ocasionan putrefacción y deterioro de los alimentos (Dorman y Deans, 2000).

El método de difusión en disco en agar propuesto por Newze y colaboradores (Newze y col., 2010), modificado en este estudio, mostró ser reproducible en cuanto a los resultados obtenidos, ya que no mostraron variaciones entre repeticiones y de bajo costo en relación con otras metodologías.

En la Figura 4 se observa el ensayo *in vitro* de *Fusarium* sp, frente a los extractos etanólicos de *Lippia* sp, en agar papa dextrosa, para la evaluación del efecto inhibitor frente al fitopatógeno.

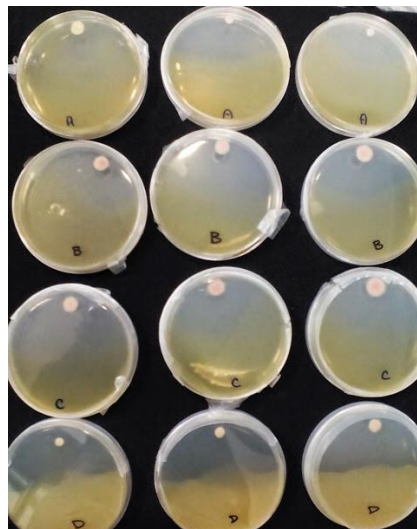


Figura 4. Ensayo *in vitro* *Fusarium* sp.

En el Cuadro 1 se observan los resultados del análisis de varianza para la evaluación de *Fusarium* sp, frente a los extractos de *Lippia* sp., bajo condiciones de laboratorio, observándose que se detectan diferencias significativas para la interacción tratamiento, tiempo y para la interacción tratamiento por repetición.

El mecanismo de acción de estos compuestos ha sido ya discutido. De acuerdo a Conner y Beuchat (1984), la acción antimicrobiana de los aceites esenciales se debe al deterioro de una gran variedad de sistemas enzimáticos. Dichos sistemas incluyen a los involucrados en la producción de energía y en la síntesis de compuestos estructurales. Farag y col. (1998),

mencionan que sus grupos hidroxifenólicos reaccionan formando enlaces puente de hidrógeno con los sitios activos de ciertas enzimas. Nychas (1995) reporta que estos compuestos actúan sobre la membrana citoplasmática de los microorganismos destruyendo su capacidad selectiva, permitiendo con esto la salida de componentes intracelulares. Este hecho, aunado a la capacidad de inactivar enzimas, podría explicar la actividad antimicrobiana de estos compuestos. En el caso específico de *P. aeruginosa* y *S. aureus*, el efecto antimicrobiano se atribuye al daño que producen estos componentes sobre la integridad de la membrana celular, lo cual afecta posteriormente la homeostasis del pH, así como el equilibrio de los iones inorgánicos (Lambert y col., 2001).

De acuerdo a Smith-Palmer y col. (1998) y Velluti y col. (2004) el efecto *in vivo* de los extractos de plantas aromáticas puede ser menor por que el contenido de agua es menor a diferencia de los medios de cultivo (*in vitro*), los cuales tienen un mayor contenido de agua, lo que favorece el efecto de los extractos etanólicos. En trabajos realizados por Bullerman y col. (1977), Hitoko y col. (1980), Karapinar (1990), se muestra que la actividad antifúngica estuvo fuertemente asociada con fenoles monoterpénicos, especialmente el carvacrol y en menor proporción el timol y eugenol.

El análisis de varianza, registro diferencias altamente significativas para tratamiento y tiempo (Cuadro 1). Para tiempo se realizó la comparación de medias por Tukey (Cuadro 2), observándose una disminución gradual en el crecimiento del hongo, a medida que transcurre el tiempo.

Fuente de Variación	Grados de Libertad (GL)	Suma de Cuadrados	Cuadrados Medios	F Calculada	Probabilidad > F
trat	5	50.945 333 33	10.189 066 67	162.31	.0001**
rep	2	0.258 000 00	0.129 000 00	2.05	.136 NS
tiem	4	27.019 333 33	6.754 833 33	107.6	.0001**
trat*rep	10	1.344 666 67	0.134 46667	2.14	.0325*
Error	68	4.268 666 67	0.6277451		
C.V	16%				

Cuadro 1. Análisis de Varianza para la evaluación de *Fusarium* sp., frente a los extractos de *Lippia* sp., bajo condiciones de laboratorio.

Tukey	Grouping	Mean	N	tiem
	A	2.533 33	18	240
	B	1.755 56	18	168
	C	1.405 56	18	144
	C	1.233 33	18	120
	D	0.938 89	18	72

Cuadro 2. Comparación de medias del efecto del efecto de *Lippia* sp, en base al tiempo.

Para evaluar el efecto de los tratamientos se realizó una comparación de medias por el método de Tukey $\alpha = .05$, donde muestra que el tratamiento con mayor promedio o media, fue el testigo (1) con un valor de 2.953 33; diferente al tratamiento con Timol (2), con 1.853 33, el cual fue estadísticamente igual al tratamiento con Carvacrol (3), con el mismo promedio 1.853 33, seguidos del tratamiento de Rey 02 (6) el cual fue diferente, mostrando un promedio de 1.100 00, estadísticamente igual al tratamiento de Rey 01 (5), con un promedio de 0.973 33, seguido del que presentó el menor crecimiento de *Fusarium* sp., frente al extracto de orégano mexicano; el cual fue el tratamiento Viad 01 (4) 0.706 67, que fue estadísticamente diferente a todos los tratamientos evaluados (Cuadro 3).

En cuanto a su efecto biocida, se observó que, así como el aceite esencial de orégano mexicano (*L. berlandieri* Schauer) inhibe considerablemente el desarrollo de *F. oxysporum* (Cueto-Wong y col., 2010), nuestros resultados concuerdan con lo publicado por Daferera y col. (2003), quienes demostraron la efectividad del aceite esencial de *O. vulgare* contra *F. solani*.

En la figura 5 se aprecian los resultados de la respuesta de Eficiencia (%), la cual mide respecto al testigo, la reducción en el crecimiento de *Fusarium* sp, cuando se desarrolla en presencia del extracto de *Lippia graveolens*; se observa una mayor eficiencia en el tratamiento de Viad 01 con 80 % a las 72 h y el que demuestra una menor eficiencia es el tratamiento con Timol absoluto con 33 %.

Por lo anterior, el extracto etanólico de *Lippia graveolens* podría ser una alternativa para el control de *Fusarium chlamydosporum*, considerado como un agente causal de importantes micosis

en seres humanos. Esto basado en que, el extracto de *Lippia graveolens* es un producto de origen natural, lo que lo convierte en un producto seguro para humanos, animales y medio ambiente.

Tukey	Grouping	Mean	N	trat
	A	2.95333	15	1
	B	1.85333	15	2
	B	1.85333	15	3
	C	1.10000	15	6
D	C	0.97333	15	5
D		0.70667	15	4

Cuadro 3. Comparación de medias del efecto del efecto de *Lippia graveolens*, en la inhibición del crecimiento de *F chlamidosporum*.

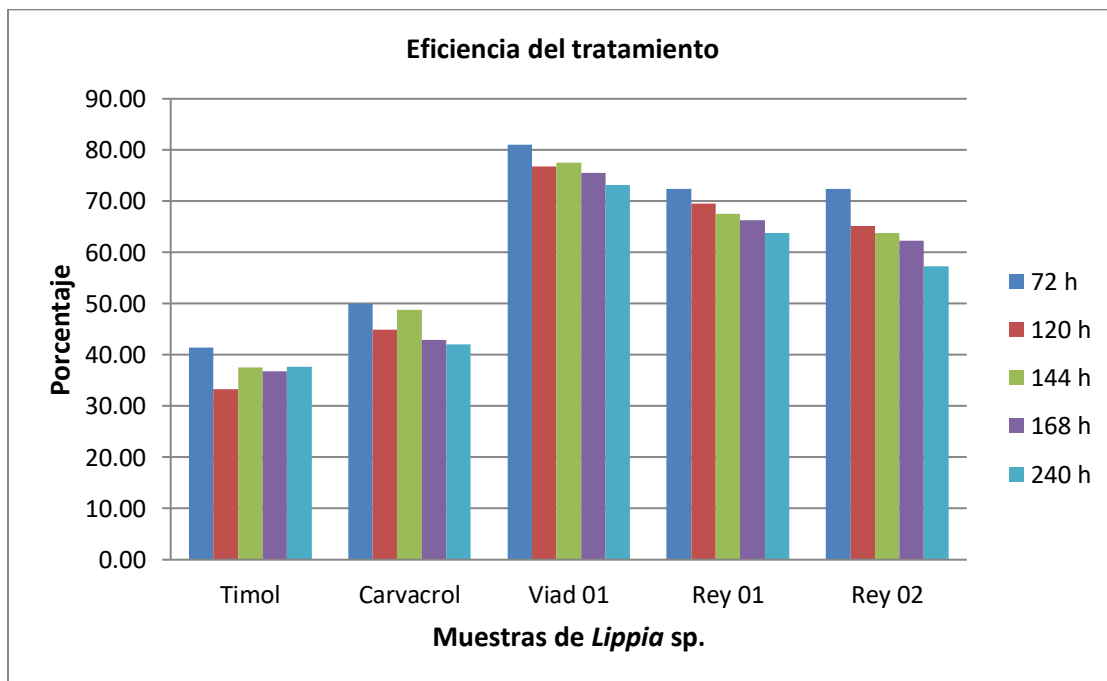


Figura 5. Se aprecian los resultados de la respuesta de Eficiencia (%)

Conclusiones

Los extractos etanólicos de *Lippia graveolens* nativo del Norte de México tienen un efecto antagónico en el crecimiento de *Fusarium chlamidosporum*, lo cual sugiere la posibilidad de uso de estos agentes en contra de fitopatógenos que afectan cultivos agrícolas. La identificación del fitopatógeno fue corroborada por secuenciación usando ITS. La antibiosis de los extractos sugiere que pueden ser empleados en el tratamiento de infecciones por *F chlamidosporum* en humanos, sin efectos adversos ya que el orégano tiene amplio uso culinario y medicinal. Por otra parte, esto puede visualizar el uso de los extractos como productos naturales, dándoles un valor agregado y con futuro para la industria farmacéutica.

Agradecimientos

A la Secretaría de Investigación y Posgrado del IPN por el apoyo otorgado para la realización de la presente investigación (SIP IPN). Al Estimulo para el Desempeño de los Investigadores (EDI – IPN). A la Universidad Autónoma de Tamaulipas y Unidad Académica Multidisciplinaria Reynosa Aztlán, por el apoyo logístico proporcionado. Finalmente se señala que no existe conflicto de interés en la publicación de esta información.

Referencias

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

Avila, S. R.; Gastélum, F. M. G.; Camacho, D. A.; Torres, M. J. V.; Nevárez, M. G. V. (2010). Extracts of mexican oregano (*Lippia berlandieri* Schauer) with antioxidant and antimicrobial activity. *Food and Bioprocess Technology* 3: 434-440. <https://doi.org/10.1007/s11947-008-0085-7>

Bullerman, L. B.; Lieu, F. Y. and Seier, S. A. (1977). Inhibition of growth and aflatoxin production by cinnamon and clove oils. Cinnamic aldehyde and eugenol. *Journal of Food Science*. 42(4): 1107-1109. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1977.tb12677.x>

Conner, D. E. and Beuchat, L. R. (1984). Effect of essential oils from plants on growth of spoilage yeasts. *Journal of Food Science*. 49:429-434. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1984.tb12437.x>

Cueto, W. M. C.; Rivas, M. C.; Alanís, G. M. G.; Oranday, C. A.; Amaya, G. C. A.; Núñez, G. A.; Samaniego, G. J. A. y Cano, R. P. (2010). Antifungal properties of essential oil of mexican oregano (*Lippia berlandieri*) against *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. Revista mexicana de micología, 31, 29-35.

Daferera, D. J.; Ziogas, B. N. and Polissiou, M. G. (2003). The effectiveness of plant essential oil on the growth of *Botrytis cinerea*, *Fusarium* sp. and *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*. Crop Protection. 22(1): 39-44. [https://doi.org/10.1016/S0261-2194\(02\)00095-9](https://doi.org/10.1016/S0261-2194(02)00095-9)

Dorman, H. J. D. and Deans, S. G. (2000). Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. Journal of Applied Microbiology. 88(2): 308-316. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.2000.00969.x>

Frag, R. S., Daw, Z. Y., Sidky Mahassen, M. A., & Mohamed Saffaa, H. (1998). Biochemical and biological studies on some tea trees (*Melaleuca* spp.) essential oils. Advances in food sciences, 20(5-6), 153-162.

García, C. E. A.; Quezada, V. M. Y.; Moreno, L. J.; Sánchez, H. G.; Moreno, M. E. y Pérez, R. M. C. J. (2006). Actividad antifúngica de aceites esenciales de canela y orégano y su efecto sobre la producción de aflatoxinas en nuez pecanera. Revista Mexicana de Fitopatología. 24(1): 8-12.

Hitokoto, H., Morozumi, S., Wauke, T., Sakai, S., & Kurata, H. (1980). Inhibitory effects of spices on growth and toxin production of toxigenic fungi. Applied and Environmental Microbiology, 39(4), 818-822.

Hoffman, C. S. and Wriston, F. (1987). A ten-minute DNA preparation from yeast efficiently release autonomous plasmids for transformation of *Escherichia coli*. Gene. 57(2): 267-272. [https://doi.org/10.1016/0378-1119\(87\)90131-4](https://doi.org/10.1016/0378-1119(87)90131-4)

Karapinar, M. (1990). Inhibitory effects of anethole and eugenol on the growth and toxin production of *Aspergillus parasiticus*. International journal of food microbiology, 10(3-4), 193-199. [https://doi.org/10.1016/0168-1605\(90\)90066-E](https://doi.org/10.1016/0168-1605(90)90066-E)

Lambert, R. J. W.; Skandamis, P. N.; Coote, P. J. and Nychas, G. J.E. (2001). A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. Journal of Applied Microbiology. 91(3): 453-462.

Mihaliak, C. A.; Gershenzo, J. and Croteau, R. (1991). Lack of rapid monoterpene turnover in rooted plants, implications for theories of plants chemicals defenses. Oecologia, 87(3): 373-376.

Montes, B. R. (2009). Diversidad de compuestos químicos producidos por las plantas contra hongos fitopatógenos. Revista Mexicana de Micología. 29: 73-82.

Nweze, E. I.; Mukherjee, P. K. and Ghannoum. (2010). "Agar-Based Disk Diffusion Assay for Susceptibility Testing of Dermatophytes". *Journal of Clinical Microbiology*. 48(10): 3750-3752. <https://doi.org/10.1128/JCM.01357-10>

Nychas, G. J. E. (1995). Natural Antimicrobials from plants. En G. W. Gould (Ed.), *New Methods of food preservation* (pp. 58-89). Blakie Academia y Professional.

Paredes, A. M. C.; Gastélum, F. M. G.; Silva, V. R. and Nevarez, M. G. V. (2007). Antimicrobial effect of mexican oregano (*Lippia berlandieri* Schauer) and its essential oil against five *Vibrio* species. *Revista Fitotecnia Mexicana*. 30(3): 261-267.

Rubio, R. G.; Baldodano, S. F.; Abanto, C. L.; Wilson, K. J. y Muñoz, R. M. (2008). Resistencia in vitro de *Rhizoctonia solani* y *Fusarium oxysporum* a los fungicidas Benzomil 500, Rhizolex-T y Homai-WP. *Revista Biologica de la Universidad de Trujillo, Peru*. 28(2): 34-46.

Smith, P. A.; Stewart, J. and Fyfe, L. (1998). Antimicrobial properties of plant essential oils and essences against five important food-borne pathogens. *Letters in Applied Microbiology*. 26(2): 118-122. . <https://doi.org/10.1046/j.1472-765x.1998.00303.x>

Velluti, A.; Marín, S.; Gonzalez, P.; Ramos, A. J. and Sanchis, V. (2004). Initial screening for inhibitory activity of essential oils on growth of *Fusarium verticillioides*, *F. proliferatum* and *F. graminearum* on maize-based agar media. *Food Microbiology*. 21(6): 649-656. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2004.03.009>

Wilson, C. L.; Solar, J. M.; El Ghaouth, A. and Wisniewski, M. E. (1997). Rapid evaluation of plant extracts and essential oils for antifungal activity against *Botrytis cinerea*. *Plant Disease*. 81(2): 204-210. <https://doi.org/10.1094/PDIS.1997.81.2.204>