

**Potencial antifúngico de aceites esenciales de tomillo y clavo ante *Alternaria* spp.****Antifungal potential of essential oils of thyme and clove against *Alternaria* spp.**

Jacobo-Salcedo, María Del Rosario<sup>1\*</sup>, Maciel-Torres, Sandra Patricia<sup>2</sup>; Constante-García, Vicenta<sup>1</sup>, Nava-Reyna, Erika<sup>1</sup>, Inzunza-Ibarra, Marco Antonio<sup>1</sup>, Pérez- García, Salma Carina<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, Centro Nacional de Investigación Disciplinaria Relación Agua-Suelo-Planta-Atmósfera, Margen Derecha Canal de Sacramento, Gómez Palacio, Durango, México. C. P. 35140.

<sup>2</sup> Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, campo Experimental General Terán, Km. 31 Carretera Montemorelos-China Exhacienda Las Anacuas, C.P. 67400

<sup>3</sup> Estudiante de Licenciatura. Facultad de Ciencias Químicas. Universidad Juárez del Estado de Durango. Gómez Palacio, Dgo., México. Av. artículo #123 s/n Fracc. Filadelfia. C.P. 35010

\*Autor para correspondencia: jacobos.rosario@inifap.gob.mx

**RESUMEN**

El melón (*Cucumis melo* L.) es una hortaliza de gran expansión en todo México. La Comarca Lagunera alberga el 20% de las áreas sembradas del país. El melón se ve afectado por hongos, bacterias, nematodos y virus, una de las enfermedades más frecuentes es el Tizón foliar causado por *Alternaria cucumerina*. Se emplea gran variedad de productos químicos para su control; sin embargo, el uso de productos herbolarios es una tendencia necesaria. Por lo que se planteó este trabajo donde se probó el efecto antifúngico de los extractos de tomillo y clavo de olor ante *Alternaria* spp. El estudio se realizó en el CENID-RASPA, los extractos se obtuvieron de las plantas clavo de olor (*Syzygium aromaticum*) y de tomillo (*Thymus vulgaris*). Los tratamientos constaron de concentraciones de 0.0, 0.5, 5, 10, 15, 25, 50, 100, 150, 250, 500, 750 y 1000 mgL<sup>-1</sup>, se incluyó como testigo el fungicida químico, Captán 50 a las mismas concentraciones. Se realizó el ANOVA, la diferencia estadística se definió por la prueba de Tukey ( $p>0.05$ ). Los resultados mostraron que el tomillo no presentó actividad en las concentraciones de 0.5 a 500 mgL<sup>-1</sup>; sin embargo, a partir de 750 y 1000 mgL<sup>-1</sup> se observó un efecto superior al observado en el testigo. En el clavo de olor no mostró actividad en las concentraciones de 0.5 a 50 mgL<sup>-1</sup>, a partir de 100mgL<sup>-1</sup> se observó un descenso en el desarrollo del hongo, en 750 y 1000 mgL<sup>-1</sup> se dio la disminución más eficientemente.

**PALABRAS CLAVE:** Agricultura Biorracional, Agricultura Orgánica, Contaminación.

**ABSTRACT**

The melon (*Cucumis melo* L.) is a vegetable of great expansion in all Mexico. The Comarca Lagunera owns the 20% of the sown areas of the country. Fungi, bacteria, nematodes and viruses affect the melon, one of the most frequent diseases is the leaf blight caused by *Alternaria cucumerina*. Wide varieties of chemicals are used for its control; however, the use of herbal products is a necessary trend. Therefore, this work was proposed where the antifungal effect of thyme and clove extracts was tested against *Alternaria* spp. The study was conducted at CENID-RASPA, the extracts were obtained from clove (*Syzygium aromaticum*) and thyme (*Thymus vulgaris*) plants. The treatments consisted of concentrations of 0.0, 0.5, 5, 10, 15, 25, 50, 100, 150, 250, 500, 750 and 1000 mgL<sup>-1</sup>, the chemical fungicide, Captán 50 at the same concentrations,

was included as a control. The ANOVA was performed; the statistical difference was defined by the Tukey test ( $p > 0.05$ ). The results showed that thyme extract did not have activity at concentrations of 0.5 to 500  $\text{mgL}^{-1}$ ; however, from 750 and 1000  $\text{mgL}^{-1}$  had a superior effect contrasting to the control. In clove, it did not show activity in the concentrations of 0.5 to 50  $\text{mgL}^{-1}$ , from 100  $\text{mgL}^{-1}$  a decrease in fungus development was observed, in 750 and 1000  $\text{mgL}^{-1}$  the decrease occurred more efficiently.

**KEY WORDS:** Biorational Agriculture, Organic Agriculture, Pollution.

## INTRODUCCIÓN

El melón (*Cucumis melo* L.) es una hortaliza de gran expansión en todo el país, existen diferentes variedades y su producción depende de la época del año. El melón ha sido uno de los cultivos importantes entre los cultivos hortícolas (INIA, 2017). México tiene una producción de 543 a 564 mil toneladas entre los años 2015 al 2016. Los principales estados productores son Coahuila (21%), Sonora (19%), Michoacán (16.5%), Guerrero (16.5%) y Durango (9.6%) (SAGARPA, 2017). La Comarca Lagunera (CL) alberga cerca del 20% de las áreas sembradas del país. Los municipios más importantes son Matamoros, San Pedro, Torreón, Viesca, Gómez Palacio, Lerdo, Mapimí y Tlahualilo. Sin embargo, Matamoros y Mapimí son los municipios con mayor producción generando 152, 954 toneladas anuales (Ramírez-Barraza, 2015). La productividad de esta hortaliza a la par con algunas otras sufre un importante impacto a causa de las enfermedades que ocasionan la disminución del rendimiento, calidad del fruto o la pérdida total del cultivo, estas se presentan en cualquier etapa fenológica (INIFAP, 2017). El melón puede ser afectado por hongos, bacterias, nematodos y virus, estos dañan cualquier parte de la planta, así mismo condiciones abióticas como temperatura, luz, humedad del suelo y desbalance nutricional (Chew, 2009). El uso de productos químicos para el control de estos factores incluye fertilizantes y pesticidas o plaguicidas, que por su naturaleza química permiten el control de las diferentes problemáticas. Sin embargo, un aspecto importante es la residualidad de estos en las plantas, frutos, suelo y agua. La persistencia de estos contaminantes genera una problemática

importante en el ambiente, aunado a que imposibilita a los productores de estas hortalizas a buscar dar un valor agregado a sus productos mediante la comercialización orgánica. Para el cultivo de *Cucumis melo* uno de las enfermedades más frecuentes y reiteradas es el **Tizón foliar** causado por el hongo *Alternaria cucumerina* el cual afecta las hojas generando manchas en el fruto. El patógeno produce lesiones de color café oscuro, pequeñas y de forma circulares, se puede encontrar un halo clorótico o verde claro, que con el paso del tiempo estas lesiones aumentan su tamaño formando áreas necróticas de forma circular con anillos concéntricos oscuros dentro de las manchas (Márquez, 2012; Rivas, 2014). Los productos comerciales más empleados para el control del Tizon son Mancozeb, Metiram, Clorotalonil, Fluazinam, Zoxamide, Cymoxanil, Dimetomorfo, Propamocarb, Metfenoxan, Metalaxil, Benalaxi, etc., los cuales son fungicidas de contacto (que no ingresan al tejido foliar) y sistémicos (que ingresan y se traslocan dentro de la planta). La base química de algunos de ellos son los ditiocarbamato o carbamato, el cual es usado no solo como fungicida sino como insecticida, este compuesto químico inhibe la enzima acetilcolinesterasa, que genera efectos irreversibles en los insectos tanto en benéficos como patogénicos. Este es un ejemplo de los efectos colaterales que se generan por el uso irracional de este tipo de productos, entre muchos otros. El sector agrícola en nuestro país requiere migrar a un manejo sustentable de los cultivos, donde se viere hacia la llamada agricultura biorracional haciendo uso de los recursos de forma natural con que se cuenta. A razón de la importante biodiversidad que tiene México donde existen cerca de 4000

especies de plantas florales (15 % de la flora total) y una innumerable cantidad de plantas, con propiedades farmacológicas, pero solo el 5% de estas especies han sido analizadas dando validación química, farmacológica y biomédica de sus propiedades (Koleff y Urquiza, 2011). La herbolaria se ha desarrollado desde tiempos prehispánicos. Diversos extractos de plantas poseen agentes antimicrobianos de gran importancia (Zeedan, 2014; Safrudin et. al., 2015;

## MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se realizó en el Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias (CENID-RASPA) ubicado en Gómez Palacio, Durango, México. En el periodo experimental fue de enero a diciembre del 2018. Los extractos se obtuvieron de las plantas clavo de olor (*Syzygium aromaticum*) (del cual se utilizaron botones florales) y de tomillo (*Thymus vulgaris*) (donde se empleó tallos y hojas). Las plantas se molieron para obtener partículas menores a los 2 mm, se optó por el método de extracción Soxhlet con conexión en serie para poder realizar la extracción de una forma más rápida y obtener la mayor cantidad posible de aceite esencial, donde se usó como solvente hexano (grado reactivo marca Merck). Se emplearon 50 g de muestra por matraz y 250 ml de solvente, esto se mantuvo en reflujo por 7 horas hasta obtener la cantidad de aceite necesario. Posteriormente, se evaporó el solvente y se colocó en frascos color ámbar para protegidos de la luz y el aire hasta su uso.

### Aislamiento del microorganismo de prueba

Se realizó una toma de muestras de áreas de cultivo donde se establecieron parcelas de melón y donde el productor refería problemas de tizón. Las muestras tomadas se colocaron en el medio enriquecido de Caldo Lactosado (CL) a cada tubo se le añadió 0.5 g de muestra vegetal y en el caso de la muestra de suelo 1 g aproximadamente y posteriormente se incubó a 26°C durante 24 hrs. Una vez transcurrido el tiempo de incubación se tomó una alícuota y se

Ramírez González, et al., 2016). Sin embargo, muchos de estos productos herbolarios se han probado en gran cantidad de cepas clínicas y su impacto en microorganismos de importancia agronómica aun es cuestionable. Por lo que es planteó este trabajo donde se buscó probar el efecto antifúngico de los extractos de tomillo y clavo de olor ante *Alternaria spp* agente causal de Tizón en cultivo de melón a nivel in vitro.

sembró en el medio de cultivo específico Agar Dextrosa Papa (PDA) en placa, se incubó durante 72 horas a 26°C. Para la caracterización e identificación las cepas sobresalientes se transfirieron a PDA acidificado (pH 4.8) y agar papa zanahoria se incubaron a 26°C por 7 días. Pudiéndose observar macroscópicamente: colonias planas y algodonosas, de color blanco grisáceo que conforme su envejecimiento se tornan de color café o verde oliva oscuro, en la parte posterior la colonia es café oscuro a negro.

### Método para cuantificación de esporas

Se tomó una muestra del hongo, la cual se colocó en un tubo previamente esterilizado con 10 ml de agua destilada estéril, homogeneizando por dos minutos. Posteriormente, se tomó una alícuota y se agregó lactofenol, la mezcla se agregó en un hemocitómetro y se observó al microscopio usando el objetivo de 10x (conidios, esporas, estructuras fúngicas). De esta manera se pudo definir la concentración de hongo que se empleó para realizar las evaluaciones.

### Preparación de tratamientos

Para el establecimiento de los tratamientos se utilizó PDA acidificado para ambos tipos de extractos (clavo de olor y tomillo). Los tratamientos constaron de concentraciones de 0.0, 0.5, 5, 10, 15, 25, 50, 100, 150, 250, 500, 750 y 1000 mg/L de cada extracto, por cada tratamiento se realizaron tres repeticiones y su blanco respectivamente, se incluyó como testigo negativo (fungicida químico) Captán 50 empleado a las mismas concentraciones.

**El método de prueba fue difusión en pozo en agar** En cada caja petri se realizó una perforación en el centro de aproximadamente 0.6



cm de diámetro donde se añadieron 200 µl del inoculo previamente preparado a una concentración de  $1 \times 10^7$  UFC. Todos los tratamientos se incubaron a 27°C por 7 días

### Diseño experimental y Análisis estadístico

Se consideraron 13 tratamientos de cada extracto y el fungicida químico. Cada tratamiento se realizó por triplicado. Y se probó ante *Alternaria spp.* como microorganismo de prueba. Los datos obtenidos se analizaron por el paquete

evaluando crecimiento cada 24 horas, una vez transcurrido ese tiempo se determinó la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI).

estadístico SPSS Versión 18. Se realizó una prueba de Normalidad y el análisis de varianza ANOVA, la diferencia de medias se definió por la prueba de Tukey a un nivel de significancia de  $p > 0.05$ .

químico de uso agrícola (Captan 50) a diferentes concentraciones sobre el hongo fitopatógeno *Alternaria spp.* causante del Tizón en el cultivo de melón del cual fue aislado y caracterizado. En el proceso de extracción de los productos vegetales se reportan los siguientes rendimientos Tabla 1., lo cual muestra que el tomillo permite obtener un mayor rendimiento al momento de su extracción.

## RESULTADOS

Las pruebas de inhibición son técnicas que permiten generar el primer acercamiento para medir la efectividad de extractos vegetales ante microorganismos diversos que como lo es en este trabajo *Alternaria spp.* (hongo fitopatógeno). El presente trabajo evaluó el potencial antifúngico de los aceites esenciales de tomillo y clavo en comparación con un antifúngico de origen

**Tabla 1.** Rendimiento de extracción de aceite esencial de tomillo y clavo de olor.

El crecimiento del hongo en las placas con los muestran que el tomillo no presentó actividad

| Extracto      | Peso Aceite esencial (g) | Rendimiento % |
|---------------|--------------------------|---------------|
| Tomillo       | 27.9796                  | 5.5959        |
| Clavo de olor | 16.2063                  | 3.2412        |

diferentes tratamientos define la respuesta de sensibilidad del hongo para crecer en contacto con los componentes extraídos del tomillo y del clavo de olor. Las observaciones realizadas

antifúngica en las concentraciones de 0.5 a 500 mg L<sup>-1</sup>; sin embargo, a partir de 750 y 1000 mg L<sup>-1</sup> se pudo observar un efecto superior a observado en el fungicida químico (Figura 1).

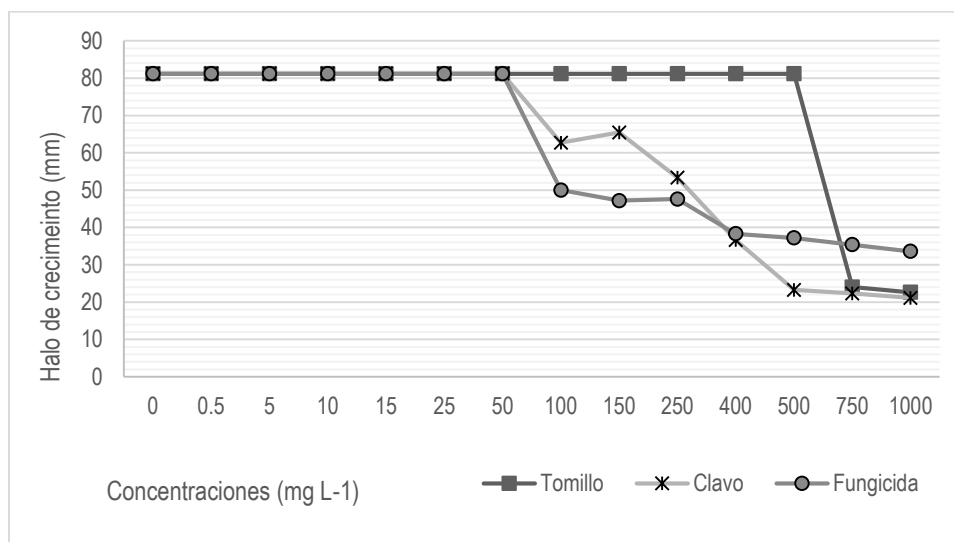


**Figura 1.** Halos de crecimiento de *Alternaria spp.* a diferentes concentraciones de fungicidas.

A su vez, el clavo de olor y el fungicida químico probado no mostraron actividad en las concentraciones de 0.5 a 50 mg L<sup>-1</sup>, a partir de estas concentraciones se observó un descenso en el desarrollo del hongo. En las concentraciones mayores de 750 y 1000 ambos extractos vegetales mostraron la disminución del crecimiento del hongo más eficientemente que el producto comercial (Figura 1). De acuerdo al análisis de los datos se muestra que existe diferencia estadística altamente significativa entre los 3 antifúngicos ( $p=0.001$ ), con lo que se puede observar que los extractos vegetales generaron una mejor respuesta antifúngica que el producto comercial empleado.

Los tratamientos donde se aplicó el extracto de tomillo ante el hongo *Alternaria spp.* mostraron un porcentaje de inhibición superior al 70% esta respuesta se observa en el análisis estadístico la cual manifiesta una diferencia estadística entre la aplicación de 750 y 1000 mg/L con respecto a las demás concentraciones donde no se advirtió de un efecto. Paralelamente, entre estas dos dosis se puede observar una diferencia estadística, con lo que se puede establecer que la dosis de mayor eficiencia es la de 1000 mg/L con un crecimiento del hongo de un 27.84% (Tabla 2.).

**Tabla 2.** Crecimiento e Inhibición del hongo *Alternaria spp* correspondiente a cada fungicida aplicado.

| Dosis<br>(mg/L) | TOMILLO            |                      | CLAVO              |                      | FUNGICIDA          |                     |
|-----------------|--------------------|----------------------|--------------------|----------------------|--------------------|---------------------|
|                 | Crecimiento (%)    | Inhibición (%)       | Crecimiento (%)    | Inhibición (%)       | Crecimiento (%)    | Inhibición (%)      |
| 0               | 100 <sup>a</sup>   | 0                    | 100 <sup>a</sup>   | 0                    | 100 <sup>a</sup>   | 0                   |
| 0.5             | 100 <sup>a</sup>   | 0                    | 100 <sup>a</sup>   | 0                    | 100 <sup>a</sup>   | 0                   |
| 5               | 100 <sup>a</sup>   | 0                    | 100 <sup>a</sup>   | 0                    | 100 <sup>a</sup>   | 0                   |
| 10              | 100 <sup>a</sup>   | 0                    | 100 <sup>a</sup>   | 0                    | 100 <sup>a</sup>   | 0                   |
| 15              | 100 <sup>a</sup>   | 0                    | 100 <sup>a</sup>   | 0                    | 100 <sup>a</sup>   | 0                   |
| 25              | 100 <sup>a</sup>   | 0                    | 100 <sup>a</sup>   | 0                    | 100 <sup>a</sup>   | 0                   |
| 50              | 100 <sup>a</sup>   | 0                    | 100 <sup>a</sup>   | 0                    | 100 <sup>a</sup>   | 0                   |
| 100             | 100 <sup>a</sup>   | 0                    | 77.24 <sup>b</sup> | 22.75 <sup>*</sup>   | 61.59 <sup>b</sup> | 38.41 <sup>*</sup>  |
| 150             | 100 <sup>a</sup>   | 0                    | 80.64 <sup>b</sup> | 19.4                 | 58.14 <sup>c</sup> | 41.86 <sup>*</sup>  |
| 250             | 100 <sup>a</sup>   | 0                    | 65.75 <sup>c</sup> | 34.26 <sup>*</sup>   | 58.64 <sup>c</sup> | 41.36 <sup>*</sup>  |
| 400             | 100 <sup>a</sup>   | 0                    | 45.15 <sup>d</sup> | 54.85 <sup>**</sup>  | 47.18 <sup>d</sup> | 52.82 <sup>**</sup> |
| 500             | 100 <sup>a</sup>   | 0                    | 28.67 <sup>e</sup> | 71.33 <sup>***</sup> | 45.82 <sup>d</sup> | 54.18 <sup>**</sup> |
| 750             | 29.62 <sup>b</sup> | 70.38 <sup>***</sup> | 27.47 <sup>e</sup> | 72.52 <sup>***</sup> | 43.61 <sup>e</sup> | 56.38 <sup>**</sup> |
| 1000            | 27.84 <sup>c</sup> | 72.16 <sup>***</sup> | 25.99 <sup>e</sup> | 74 <sup>***</sup>    | 41.39 <sup>e</sup> | 58.6 <sup>**</sup>  |

† Medias con la misma letra dentro de columnas no son estadísticamente diferentes (Tukey  $P = 0.05$ ). La inhibición del extracto se categoriza como: \* Activo, \*\* Muy Activo, \*\*\*Altamente Activo.

El crecimiento del hongo exhibió una disminución a partir de la concentración de 100 mg/L con lo que se obtuvo un crecimiento del 77.24% en comparación con el testigo. El estadístico muestra diferencias estadísticas entre los datos, donde se observa la formación de diferentes grupos de datos. La dosis que mostró mayor actividad antifúngica fue la de 1000 mg/L con un crecimiento de 25.9% y una inhibición del 74%, que cabe señalar está concentración fue la que mayor disminución en el crecimiento mostró en referencia a todos los productos probados y sus respectivas concentraciones (Tabla 2).

## DISCUSIÓN

En la presente investigación se demostró que las plantas aromáticas tomillo (*Thymus vulgaris*) y clavo de olor (*Syzygium aromaticum*) cuentan con propiedades antifúngicas como se observó en el hongo fitopatógenos *Alternaria spp.*, obteniendo inhibiciones de un 70%, aproximadamente. Los resultados obtenidos

El control químico probado Captan 50, producto a base de N-(triclorometilto) ciclohex-4-en1,2-dicarboximida se evaluó a las mismas dosis que los extractos vegetales. La respuesta de este producto inició a partir de la concentración de 100 mg/L, en esta el hongo creció 61.59% con respecto al testigo con una inhibición del 38%. En la dosis de 1000 mg/L el crecimiento fue de 41.39 y la inhibición de 58.6%, siendo menor a la de los extractos vegetales evaluados (Tabla 2). Los resultados obtenidos se evaluaron considerándose *Activo* los extractos que presentaron un porcentaje de crecimiento menor o igual al 80% y un porcentaje de inhibición mayor o igual al 20% (Márquez et al., 2012).

ponen de manifiesto la factibilidad de remplazar la aplicación de fungicidas químicos por aceites esenciales en el control de enfermedades como lo es el caso del Tizón.

Los resultados observados coinciden con los reportados por Ramírez- González (2016), en donde se reporta una inhibición del 100% del crecimiento del hongo *Alternaria solani* con extractos de destilación (30%), microondas



(30%) y aceite (0.1%) de clavo de olor. Es posible contrastar esta información con la reportada en este estudio donde con la concentración de 1000 mg L<sup>-1</sup> de generó una inhibición del crecimiento en un 70 %, aproximadamente.

El estudio realizado por Armas-Caballero et al., (2011) reporta que los aceites esenciales de tomillo y clavo de olor, presentaron una inhibición total del crecimiento de *Fusarium sp.* las concentraciones de 0.02 y 0.03 % respectivamente. Este reporte indica que las concentraciones empleadas de los extractos generaron un proceso de inhibición más eficiente que los analizados en este estudio así mismo esta respuesta depende de los índices de sensibilidad del hongo a los productos probados por lo que es posible indicar que *Fusarium sp.* presenta mayor sensibilidad que *Alternaria spp.* Se ha determinado que los géneros *Origanum* (orégano), *Thymus* (tomillo) y *Cinnamomum* (canela) poseen propiedades antioxidantes y farmacológicas las cuales se relacionan con los principios activos de las mismas como lo son los compuestos fenólicos, carvacrol y el timol que son utilizados bajo ciertos criterios y condiciones como fungicidas y bactericidas para inducir la lisis rápida de la célula bacteriana (Basim et. al., 2004; Aisha, et al., 2012; Bougerra, et al., 2017). Citando lo anterior es posible confirmar el efecto antifúngico del tomillo bajo las condiciones establecidas en este trabajo, donde se realizó la extracción hexánica del aceite esencial y las dosis activas fueron de 750 y 1000 mg L<sup>-1</sup> ante el hongo *Alternaria spp.*

La publicación generada por Villa Martínez, et al., (2015) hace una interesante recopilación de información sobre la actividad antifúngica de plantas ante diferentes especies del hongo *Fusarium*, entre estas se encuentra el clavo de olor, que presenta la inhibición del crecimiento micelial de *Fusarium graminearum*. La actividad biológica ante hongos patógenos se ve rectificada también con el hongo *Alternaria spp.* como se muestra en los resultados del presente trabajo.

## CONCLUSIONES

Entre los dos componentes vegetales empleados se observó que el mejor rendimiento lo tuvo el tomillo con base en una extracción por el método Soxhlet empleando hexano como solvente. Los extractos hexánicos de tomillo y clavo de olor poseen actividad antifúngica ante *Alternaria spp.* agente causal del Tizón foliar. La actividad biológica de estos aceites esenciales presenta su mejor respuesta empleando una concentración de 1000 mg L<sup>-1</sup> en las pruebas in vitro realizadas.

## LITERATURA CITADA

- Aisha, A. F. A., Abu-Salah, K. M., Alrokayan, S. A., Siddiqui, M. J., Ismail, Z., y Abdul Majid, A. M. S. (2012). *Syzygium aromaticum* extracts as good source of betulinic acid and potential anti-breast cancer. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, 22(2), 335–343. doi.org/10.1590/S0102-695X2011005000185
- Armas Caballero, C., Márquez Villacorta, L., y Pretell Vásquez, C. (2011). Efecto del aceite esencial de clavo de olor (*Syzygium aromaticum*), canela (*Cinnamomum zeylanicum*) y su combinación sobre la acción antifúngica en *Aspergillus flavus* en agar chicha de maíz (*Zea mays* L.) variedad morado. *Pueblo Contaminación*, 22(1), 123–132.
- Basim, E.; Basic, H.; Dikcstein, E. R.; Jones, J. B. (2004). Bacterial Canker caused by *Clavibacter michiganensis* subsp *michiganensis* on greenhouse-grow tomato in the Western Mediterranean region of Turkey. *Plant Disease*. 88: 1048.
- Bougerra, N., Tine Djebbar, F. y Soltani, N. (2017). Algerian *Thymus vulgaris* essential oil: chemical composition

- and larvicidal activity against the mosquito *Culex pipiens*. *International Journal of Mosquito Research*, 4(1), 37–42.
- INIA. (2017). Manual de manejo agronómico para cultivo de melón. [www.inia.cl/wp-content/uploads/ManualesdeProduccion/01%20Manual%20melon.pdf](http://www.inia.cl/wp-content/uploads/ManualesdeProduccion/01%20Manual%20melon.pdf) Fecha de Consulta: 07 octubre de 2019
- INIFAP. (2017). Agenda Técnica Agrícola de Durango y La Laguna, 195. Retrieved from [http://www.inifap.gob.mx/Documentos/inicio/Agendas\\_Tec/2017/Agenda\\_Tecnica\\_Durango\\_OK.pdf](http://www.inifap.gob.mx/Documentos/inicio/Agendas_Tec/2017/Agenda_Tecnica_Durango_OK.pdf) Fecha de Consulta: 15 septiembre de 2019
- Márquez, E. (2012). Introducción Enfermedades foliares y del tallo causadas por hongos, (Publicación 155).
- Koleff, P. y T. Urquiza-Haas (coords.). (2011). Planeación para la conservación de la biodiversidad terrestre en México: retos en un país megadiverso. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad–Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas, México. ISBN 978-607-7607-58-8
- Ramírez González, S. I., López Báez, O., Espinosa Zaragoza, S., & Wong Villarreal, A. (2016). Actividad antifúngica de hidrodestilados y aceites sobre *Alternaria solani*, *Fusarium oxysporum* y *Colletotrichum gloeosporioides*. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 7, 1879–1891.
- Rivas, L. M., y Mühlhauser, M. (2014). *Alternaria* spp. *Revista Chilena de Infectología*, 31(5), 605–606. doi.org/10.4067/s0716-10182014000500013
- Safrudin, I., Maimulyanti, A., Prihadi, A. R., & Al, E. (2015). Effect of crushing of clove bud (*Syzygium aromaticum*) and distillation rate on main constituents of the essential oil. *American Journal of Essential Oils and Natural Products*, 2(3), 12–15. doi.org/10.1557/adv.2018.98
- SAGARPA, I. (20017). Melón: Generalidades de su producción. El melón: Tecnologías de Producción Y Comercialización, (4), 1–15. doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004
- Villa-Martínez, A., Pérez-Leal, R., Morales-Morales, H. A., Basurto-Sotelo, M., Soto-Parra, J. M., & Martínez-Escudero, E. (2015). Situación actual en el control de *Fusarium* spp. y evaluación de la actividad antifúngica de extractos vegetales. *Acta Agronómica*, 64(2), 194–205. doi.org/ISSN: 0120-2812
- Zeedan, G. S. G. (2014). Evaluation of antibacterial effect of some sinai medicinal plant extracts on bacteria isolated from bovine mastitis. *Veterinary World*, 7(11), 991–998. doi.org/10.14202/vetworld.2014.991-998