

1-1-2018

Actividad antifúngica de aceites de frutos de palmas *Oenocarpus bataua*, *Cocos nucifera*, *Elaeis oleifera*, *Maurita flexuosa* y *Acrocomia aculeata* frente a *Fusarium solani*

Erika Vanessa Reyes Rojas
Universidad de La Salle, Bogotá

Follow this and additional works at: <https://ciencia.lasalle.edu.co/biologia>

Citación recomendada

Reyes Rojas, E. V. (2018). Actividad antifúngica de aceites de frutos de palmas *Oenocarpus bataua*, *Cocos nucifera*, *Elaeis oleifera*, *Maurita flexuosa* y *Acrocomia aculeata* frente a *Fusarium solani*. Retrieved from <https://ciencia.lasalle.edu.co/biologia/29>

This Trabajo de grado - Pregrado is brought to you for free and open access by the Departamento de Ciencias Básicas at Ciencia Unisalle. It has been accepted for inclusion in Biología by an authorized administrator of Ciencia Unisalle. For more information, please contact ciencia@lasalle.edu.co.

ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA DE ACEITES DE FRUTOS DE PALMAS *Oenocarpus bataua*, *Cocos nucifera*, *Elaeis oleifera*, *Maurita flexuosa* y *Acrocomia aculeata* FRENTE A *Fusarium solani*.

ERIKA VANESSA REYES ROJAS.

UNIVERSIDAD DE LA SALLE.

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS BÁSICAS.

PROGRAMA DE BIOLOGÍA.

BOGOTÁ D.C., COLOMBIA.

2018

ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA DE ACEITES DE FRUTOS DE PALMAS *Oenocarpus bataua*, *Cocos nucifera*, *Elaeis oleifera*, *Maurita flexuosa* y *Acrocomia aculeata* FRENTE A *Fusarium solani*.

ERIKA VANESSA REYES ROJAS.

TRABAJO DE GRADO PARA OPTAR AL TÍTULO DE BIÓLOGA.

DIRECTORA

LUCÍA CRISTINA LOZANO ARDILA.

MICROBIÓLOGA MSc. Ph.D

UNIVERSIDAD DE LA SALLE.

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS BÁSICAS.

PROGRAMA DE BIOLOGÍA.

BOGOTÁ D.C., COLOMBIA

2018.

AGRADECIMIENTOS.

En primer lugar, quiero agradecerle a la vida por ponerme en este camino y la oportunidad de cumplir esta importante etapa, quiero agradecerle a mi familia, especialmente a mi mamá por siempre ponerme en primer lugar, por su apoyo, consejos, guía, amor y cariño.

De igual forma, quiero darle las gracias a la Universidad de La Salle, al Programa de Biología y a cada uno de los profesores que hicieron parte de mi formación como profesional y persona. Especialmente, quiero agradecerle a mi tutora, la profesora Lucía Lozano Ardila por su constante guía, apoyo incondicional, aprendizaje, paciencia, comprensión y consejos en cada etapa de la elaboración de este trabajo. También quiero agradecer al profesor Luis Alberto Núñez por otorgarme algunos de los aceites trabajados. Así mismo quiero agradecer a los laboratoristas de la Universidad de La Salle por toda su colaboración y permitirme desarrollar la parte experimental de mi tesis.

Finalmente, quiero agradecer a mi pareja, Miguel López López por sus imparables consejos, amor y apoyo en cada momento de la ejecución de este trabajo.

CONTENIDO.

LISTA DE FIGURAS.

LISTA DE TABLAS.

RESUMEN,

Palabras clave,

ABSTRACT.

Keywords.

1. INTRODUCCIÓN.

1.1 Estudios con extractos de plantas frente a *F. solani*.

2. OBJETIVOS.

2.1 Objetivo general.

2.2 Objetivo específicos.

3. MATERIALES Y MÉTODOS.

3.1 Obtención de los aceites.

3.2 Origen e identificación de *F. solani*.

3.3 Ensayo con solventes.

3.3.2 Prueba antifúngica de los solventes.

3.4 Prueba antifúngica.

3.4.1 Prueba de susceptibilidad.

3.4.2 Inhibición de crecimiento micelial por dilución en agar.

3.5.1 Recuento de conidios.

3.5.2 Determinación de germinación de conidios,

3.6 Análisis estadístico.

4. RESULTADOS.

4.1 Ensayo con solventes.

4.2 Ensayo con solventes.

4.2.1 Ensayo de solubilidad de los aceites.

4.3 Prueba antifúngica de los aceites.

4.3.1 Prueba de susceptibilidad por perforación en agar.

4.3.2 Inhibición de germinación de conidios.

5. DISCUSIÓN DE RESULTADOS.

5.1 Ensayo de solventes.

5.1.1 Ensayo de solubilidad de aceites.

5.2 Prueba antifúngica de los solventes.

5.2.1 Toxicidad de DMSO al 2%.

5.2.2 Toxicidad de etanol al 1%.

5.2.3 toxicidad de Tween 80 al 1%.

5.3 Prueba antifúngica de los aceites.

6. CONCLUSIONES.

7. BIBLIOGRAFÍA.

LISTA DE FIGURAS.

Figura 1. Microscopía para determinación de especie,

Figura 2. Solubilidad del aceite *Mauritia flexuosa* con DMSO a diferentes concentraciones.

Figura 3. Prueba antifúngica de solventes.

Figura 4. Susceptibilidad de *F. solani* frente a Carbendazim en comparación con el control negativo.

Figura 5. Halo e inhibición generado por los diferentes a una concentración de 15% y control positivo, en comparación del control negativo.

Figura 6. Porcentaje de inhibición de crecimiento micelial de *F. solani*.

Figura 7. Porcentaje de inhibición de germinación de conidios de *F. solani*.

LISTA DE TABLAS,

Tabla 1. Solventes utilizados y concentración respectiva para la solubilización con respectivos aceites.

Tabla 2. Porcentaje de inhibición de conidios de *F. solani* por etanol al 1%, DMSO al 2% y Tween 80 al 1%.

RESUMEN,

Las infecciones por *Fusarium solani* en humanos, están estrechamente relacionada con el estado inmune del hospedero, siendo los pacientes inmunocomprometidos quienes presentan mayor riesgo de padecer los cuadros clínicos más severos de la fusariosis. Por otra parte, el principal efecto generado por *F. solani* en plantas es el marchitamiento vascular afectando la calidad, el rendimiento y la producción de los cultivos, ocasionando grandes pérdidas monetarias para los agricultores.

Se ha determinado la resistencia de *F. solani* frente a los diferentes fungicidas y antimicóticos comúnmente utilizados para su inhibición, los extractos naturales pueden alternativa para contrarrestar los efectos producidos por este hongo, en especial los aceites de palmas, ya que se ha demostrado actividad antioxidante, antidiabética, antiinflamatoria, inmunoestimulante, antricitrizantes, antibacterial y antiviral, pero no se tiene documentación acerca de su potencial antifúngico frente a *F. solani*. El objetivo de este trabajo fue determinar la actividad antifúngica de aceites de frutos de las palmas *Oenocarpus bataua*, *Cocos nucifera*, *Elaeis oleífera*, *Maurita flexuosa* y *Acrocomia aculeata* frente a *F. solani*.

Se determinó la solubilidad de los aceites a diferentes concentraciones (35%, 30%, 25%, 20% y 15%), con diferentes solventes como DMSO (2%, 5%, 10%), etanol (1%, 5%) y Tween 80 (1%). Se evaluó la toxicidad de los solventes en el crecimiento micelial y la inhibición de germinación de conidios a la concentración que solubilizó cada aceite. Por dilución en agar se determinó la actividad antifúngica de cada uno de los aceites y se evaluó el potencial de los aceites en cuanto a la inhibición de germinación de conidios.

Los resultados que se obtuvieron mostraron el potencial de los aceites de las especies *E. oleífera* (15%) y *M. flexuosa* (15%) en cuanto a la inhibición de crecimiento micelial, sin embargo el fungicida utilizado (Carbendazim) produjo un mayor efecto, mientras que para la inhibición de germinación de conidios los aceites que produjeron un alto porcentaje fueron *O. bataua*, *C. nucifera* y *A. aculeata* al 15%, superando el efecto generado por el fungicida. Por lo que se pueden ser incluidos los aceites anteriormente nombrados como alternativa en el control de *F. solani*.

Palabras clave. Aceite, *Oenocarpus bataua*, *Cocos nucifera*, *Elaeis oleífera*, *Maurita flexuosa*, *Acrocomia aculeata*, *Fusarium solani*.

ABSTRACT.

Infections by *Fusarium solani* in humans are closely related to the immune status of the host, immunocompromised patients have the most serious risks of fusarium diseases. On the other hand, the main effect of *F. solani* on plants is the vascular wilt affecting the quality, and yield production of the crops, causing great monetary losses for farmers.

F. solani has resistance to common used fungicides and antifungals, so natural extracts could be an alternative to counteract the effects produced by this fungus; especially palm oils, since antioxidant, antidiabetic, anti-inflammatory, immunostimulant, anticancer, antibacterial and antiviral activity have been demonstrated, but there is no documentation about its antifungal potential against *F. solani*. The objective of this work is to determine the antifungal activity of *Oenocarpus bataua*, *Cocos nucifera*, *Elaeis oleifera*, *Maurita flexuosa* and *Acrocomia aculeata* oils against *Fusarium solani*.

The solubility of the oils was determined at different concentrations (35%, 30%, 25%, 20% and 25%), in different solvents,; DMSO (2%, 5%, 10%), ethanol (1%, 5%), and Tween 80 (1%). The toxicity of the solvents to the mycelial growth and the inhibition of germination of conidia were evaluated at the concentration that solubilized each oil. Antifungal activity of each of the oils was determined by agar dilution and inhibition of conidia germination.

The results obtained showed the potential of the oils of the species *E. oleifera* and *M. flexuosa* in mycelial growth inhibition however the fungicide used (Carbendazim) produced a greater effect, while in experiments regarding conidia germination inhibition the oils with most of effect were *O. bataua*, *C. nucifera* and *A. aculeata* at 15%, surpassing the effect generated by the fungicide. Therefore, oils previously mentioned could be an alternative to control *F. solani* .

Key words: Oils, *Oenocarpus bataua*, *Cocos nucifera*, *Elaeis oleifera*, *Maurita flexuosa* *Acrocomia aculeata*, *Fusarium solani*.

1. INTRODUCCIÓN.

Fusarium solani pertenece al grupo de microorganismos que producen hialohifomicosis, término utilizado para describir infecciones dirigidas a humanos y plantas, generadas por hongos hialinos y con hifas ramificadas y no ramificadas (1). Este hongo generalmente se encuentra en regiones templadas y tropicales, sin embargo, también ha sido hallado en desierto y en el ártico. Se distribuyen en suelo, aire y agua; donde se dispersan por extensión micelial o por medio de conidios, siendo las vías de infección de humanos y plantas (1-4, 6).

Las infecciones por *F. solani* en humanos, están estrechamente relacionada con el estado inmune del hospedero, siendo los pacientes inmunocomprometidos quienes presentan mayor riesgo de padecer los cuadros clínicos más severos de la fusariosis, tales como; peritonitis, tromboflebitis, artritis, osteomielitis, complicaciones oftalmológicas, sinusitis, neumonía e infecciones diseminadas, en este último caso, puede causar entre el 50% a 80% de mortalidad. En las personas con un sistema inmune óptimo, la infección con este hongo puede causar onicomycosis y queratitis (1, 27, 8).

Por otra parte, el principal efecto generado por *F. solani* en plantas es el marchitamiento vascular afectando la calidad, el rendimiento y la producción de los cultivos, ocasionando grandes pérdidas monetarias en cultivos de tomate, cítricos, berenjena, guisantes, frijoles, garbanzos y pimientos (3, 9-12).

Se han incorporado fungicidas (carbendazim y hexaconazol) y antimicóticos (anfotericina B, itraconazol y voriconazol), para contrarrestar los efectos de las especies de *Fusarium*, como *Fusarium oxysporum* en cultivos agrícolas y en humanos enfermos. Sin embargo, estudios *in vitro* han reportado que *F. solani* ha generado resultados variables en la susceptibilidad frente a los antimicóticos mencionados anteriormente, en donde las concentraciones necesarias para inhibir el hongo fueron entre 0,5 a 30 µg/ml; adicionalmente, se ha demostrado que *F. solani* es más difícil de controlar que *F. oxysporum* (4, 5, 9,13-17).

Debido a la adquisición de resistencia a los compuestos químicos por parte de microorganismos patógenos, en los últimos años se ha impulsado la utilización de extractos de plantas, debido a que contienen compuestos bioactivos tales como; taninos, fenoles, terpenos, flavonoides entre otros, los cuales se ha reportado que presentan actividades antifúngicas, antibacterial y antioxidante, por lo que han sido empleadas en la medicina

natural (18,19). Adicionalmente, las plantas presentan diferentes componentes que les otorgan diferentes mecanismos de acción sobre microorganismos patógenos, haciendo que no se adquiriera resistencia (18). Por ello, es importante promover los estudios de diferentes tipos de extractos, puesto que a partir de estos, se puede llegar a fabricar medicamentos y fungicidas, favoreciendo al sector de salud y agrícola (19). Adicionalmente, las plantas han tenido un rol fundamental en la vida cotidiana del hombre, ya que le han servido como alimento, vivienda y vestido (19-23).

1.1 Estudios con extractos de plantas frente a *F. solani*.

Se ha evaluado la actividad *in vitro* de plantas medicinales, ornamentales y aceites esenciales frente a *F. solani* (20, 21, 24- 28). Destacando que los extractos de ajo (*Allium sativum*), cebolla (*Allium cepa*), eucalipto (*Eucalyptus globulus*), caléndula (*Calendula officinalis*), jengibre (*Zingiber officinale*), extractos acuosos de lavanda (*Lavandula augustiflora*) y tomillo (*Thyme vulgare*), fueron óptimos para inhibir el crecimiento micelial de *F. solani* a bajas concentraciones (20, 21, 24, 28). De igual forma, se han determinado la efectividad de los extractos de *Psidium guajava*, papaya (*Carica papaya*), limón (*Citrus limon*), café (*Coffea arabica*) frente a *F. oxysporum* (22, 29-33).

Mientras que, los aceites esenciales del clavo (*Syzygium aromaticum*), cebolla (*A. cepa*), eucalipto (*E. globulus*) fueron efectivos para la inhibición de crecimiento micelial de *F. solani* (26,27). Para la inhibición de germinación de conidios se requirieron bajas concentraciones de los extractos acuosos de lavanda (*Lavandula augustiflora*) y tomillo (*Thyme vulgare*) y de aceites esenciales de *A. cepa* y *E. globulus* (26, 28), a pesar de que las plantas anteriormente mencionadas sean conocidas en nuestro país, la mayoría de estos estudios se han desarrollado con plantas endémicas de Asia, Europa y África.

Colombia ocupa el primer lugar en América del Sur y el tercero a nivel mundial por poseer mayor riqueza de la familia Arecaceae, con alrededor de 220 especies y 43 géneros. Su distribución se extiende desde el nivel del mar hasta alturas superiores a los 3000 metros, así como desde las zonas más secas hasta las selvas más cálidas. Esta familia representa importancia económica, socio-cultural, alimenticia, industrial y farmacéutica en el país (34, 35), entre los productos que se obtienen a partir de las palmas se encuentran los aceites de los frutos de las especies *Oenocarpus bataua*, *Cocos nucifera*, *Elaeis oleífera*, *Maurita flexuosa* y *Acrocomia aculeata*. En donde, diversos estudios han demostrado que estos aceites contienen entre otros, ácidos grasos, carotenoides, flavonoides y vitamina A que les

otorgan actividad antioxidante, antidiabética, antiinflamatoria, inmunoestimulante, antirritante, antibacteriana y antiviral (36-43).

Son muy escasas las investigaciones que se tienen acerca de la actividad antifúngica de los aceites de frutos de diferentes especies de palmas. Sin embargo, se ha evaluado la actividad antibacteriana del fruto de la especie *Mauritia flexuosa* frente a *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Enterobacter aerogenes*, *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae*; encontrando solamente un alto poder inhibitorio de los extractos frente a *B. subtilis*, *S. aureus*, *K. pneumoniae* y *E. aerogenes*. Aunque, al comparar los efectos de este aceite frente a la gentamicina, este último generó mayor inhibición (39). Lo más cercano de estudios antifúngicos de aceite de palmas, es el caso del aceite de coco contra diferentes especies de *Candida*, obteniendo 100% de sensibilidad de la levadura a bajas concentraciones del aceite (36, 44).

2. OBJETIVOS.

2.1 OBJETIVO GENERAL.

Determinar la actividad antifúngica de aceites de frutos de las palmas *Oenocarpus bataua*, *Cocos nucifera*, *Elaeis oleífera*, *Mauritia flexuosa* y *Acrocomia aculeata* frente a *Fusarium solani*.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.

2.2.1 Evaluar el efecto de los aceites del fruto de las palmas de *O. bataua*, *C. nucifera*, *E. oleífera*, *M. flexuosa* y *A. aculeata* en el crecimiento micelial de *F. solani*.

2.2.2 Determinar el potencial del extracto del aceite de las palmas *O. bataua*, *C. nucifera*, *E. oleífera*, *M. flexuosa* y *A. aculeata* en la inhibición de la germinación de conidios de *F. solani*.

3. MATERIALES Y MÉTODOS.

3.1 Obtención de los aceites.

Los aceites de *C. nucifera* y *M. flexuosa* se obtuvieron en establecimientos comerciales. Mientras que los aceites de *E. oleífera* (rojo y negro), *O. bataua* y *A. aculeata* fueron

donados por el profesor Luis Alberto Núñez. El aceite rojo de la especie *E. oleifera* proviene del mesocarpo y el aceite negro de las semillas.

3.2 Origen e identificación de *F. solani*.

La cepa del hongo con la que se realizó este trabajo, fue aislada a partir de un cultivo de cebolla ubicado en Samacá- Boyacá. Para la identificación se empleó medio CLA, se dispusieron pequeños trozos de hojas de clavel en el medio, a continuación, se inocularon las hojas con 5 mm de micelio a partir de un cultivo en medio PDA de 7 días a una temperatura de 25°C. Las cajas fueron incubadas a la temperatura mencionada anteriormente, después de 10 días de incubación. Se realizó la identificación por medio de claves y las respectivas descripciones de los macroconidios y microconidios (45).

3.2 Actividades preliminares con los aceites

El aceite de la especie *O. batava* se encontraba precipitado, por lo que se filtró por medio de embudo y papel filtro.

De igual forma, los aceites de las especies *C. nucifera*, *E. oleifera* (aceite negro) y *A. aculeata* se encontraban solidificados, por tanto, se colocaron en incubadora de 37°C por 1 hora, hasta que estuvieron líquidos antes de realizar los respectivos ensayos.

3.3 Ensayo con solventes.

3.3.1 Ensayo de solubilidad de los aceites.

Se realizaron pruebas de solubilidad de los respectivos aceites con dimetilsulfoxido (DMSO) a concentraciones de 2%, 5% y 10%, Tween 80 al 1%, etanol al 1% y 5% (44, 46-51).

Los ensayos de solubilidad se realizaron en tubos eppendorf de 1,5 ml donde se adicionó la respectiva concentración del solvente, los aceites al (15%, 20%, 25%, 30%, 35%) y se completó a 1ml con agua destilada.

3.3.2 Prueba antifúngica de los solventes.

Se realizó la técnica de perforación en agar PDA con un pozo de (6 mm), en el que se adicionaron 100 µl de aquellas concentraciones de los solventes que fueron eficientes para solubilizar los aceites, a continuación se tomaron 5 mm de micelio a partir de un cultivo en medio PDA de 7 días a una temperatura de 25°C y se colocaron en 4 puntos diferentes alrededor del pozo, este ensayo se comparó con un control negativo (el hongo sin ningún

tipo de solvente). Se realizaron 3 réplicas y se incubaron a 25°C. Se determinaron los halos de inhibición a los 7 días (50, 51).

De igual forma se determinó la toxicidad de estos solventes en la inhibición de germinación de conidios, metodología descrita en los numerales 3.5.1 y 3.5.2.

3.4 Prueba antifúngica.

3.4.1 Prueba de susceptibilidad.

En esta prueba se empleó la metodología del numeral 3.3.2 Sin embargo, en los pozos se añadieron 100 µl del aceite solubilizado con el solvente correspondiente. Se manejó como control positivo Curacarb (compuesto activo carbedanzim) a 50 g/l, se empleó la misma metodología anteriormente mencionada. Se emplearon 3 réplicas para cada tratamiento, se incubaron a 25°C y se midieron los halos de inhibición a los 7 días (51).

3.4.2 Inhibición de crecimiento micelial por dilución en agar.

La correspondiente concentración de aceite y solvente se añadieron directamente al PDA después de autoclavar y cuando el medio de cultivo aún estaba líquido, a una temperatura entre 45-50°C, se agregó el respectivo aceite y correspondiente solvente. A continuación, se sirvió el agar en cajas de petri estériles y se dejó solidificar. Se inoculó el centro de la caja con 5 mm de un cultivo de 7 días del hongo y se incubó a 25°C (28, 32, 33, 52). Se utilizó como control negativo únicamente el agar y como control positivo se empleó Curacarb (compuesto activo carbedanzim) al 50 g/l. Se documentó el halo de crecimiento a los 7 días.

A continuación, se determinó el porcentaje de inhibición de crecimiento micelial por medio de la siguiente fórmula:

$$\% \text{ inhibición de crecimiento micelial} = \frac{(sc - st)}{sc} \times 100$$

En donde, sc: halo de crecimiento en el control y st: halo de crecimiento en el tratamiento.

3.5 Inhibición de germinación de conidios.

3.5.1 Recuento de conidios.

A partir de un cultivo incubado por 10 días a una temperatura de 25°C, se procedió a realizar la suspensión de conidios. Se agregó directamente al cultivo 1000 µl de Tween 80 al 0,5% tomado y soltando 3 veces cuidadosamente sin llegar a desprender crecimiento micelial, a continuación, la suspensión fue diluida a 10⁻¹ y se realizó vortex aproximadamente por 1 minuto. Se continuaron las diluciones en base 10 hasta la obtención de las diluciones 10⁻³ y 10⁻⁴ para el recuento de conidios, por capilaridad se cubrió la cámara Neubauer con la suspensión de la dilución 10⁻⁴. Se realizó conteos de conidios de los 4 cuadrantes (A, B, C, Y D) en 40x (el respectivo conteo se llevó a cabo en la cuadrícula para glóbulos blancos). Se repitieron 5 veces el conteo lavando la cámara con agua entre conteos.

Se promedió el número de conidios obtenidos en cada repetición por cada cuadrante y se empleó el siguiente cálculo (45):

$$\text{Total de conidios } x \text{ ml} = (A + B + C + D) x 2500$$

3.5.2 Determinación de germinación de conidios.

Se tomaron 200 µl de la dilución 10⁻⁴ de la suspensión de conidios, a continuación, se adicionaron 200 µl del respectivo aceite y el correspondiente solvente, se homogenizó empleando vortex por 5 segundos y se sirvieron alícuotas de 100 µl de esta mezcla en cajas de Petri con 10 ml de agar PDA. Se estableció control negativo (únicamente los conidios) y positivo (Carbendazim a 50 g/l).

Los ensayos se incubaron por 22 horas a 25°C. Posteriormente se seleccionó un fragmento de agar con las alícuotas, se montaron en láminas con 1 gota de azul de lactofenol y se cubrió con laminilla. Se contaron los conidios germinados y no germinados por medio de microscopio en 40x, se montaron 3 láminas en total (ensayo por triplicado). Se efectuaron los conteos 5 veces (45).

Para la determinación del porcentaje de germinación por cada tratamiento se utilizó la siguiente fórmula:

$$\% \text{ germinación} = \frac{\text{No. de conidios germinados}}{\text{No. de conidios totales}} x 100$$

Se promediaron el porcentaje de conidios germinados obtenidos en cada ensayo, se comparó con el control negativo determinando el porcentaje de inhibición de germinación por cada aceite y control positivo, empleándola siguiente fórmula:

$$\% \text{ inhibición de germinación de conidios} = \frac{(sc - st)}{sc} \times 100$$

En donde, sc: número de conidios germinados en el control y st: número de conidios germinados después del tratamiento.

3.6 Análisis estadístico.

Se realizó un análisis de varianza de Kruskal Wallis para datos no paramétricos, para determinar si existen diferencias en la actividad antifúngica de los aceites de los frutos de las palmas para la inhibición de germinación de conidios y el potencial de los aceites en la inhibición de crecimiento micelial con un valor de p de (0,05); a continuación, se empleó un análisis de Conover para definir cuáles de los tratamientos son similares en sus efectos. Estos análisis se realizaron por medio del software R.

4. RESULTADOS.

4.1 Identificación de *F. solani*.

Se observaron las características morfológicas del hongo para su identificación. Las cuales fueron observadas en medio CLA.. Se pudieron observar microconidios con forma ovalada y con muesca, sin septos, se encontraron dispuestos en falsas cabezas y monofiálide larga (Figura 1A y 1B). Los macroconidios presentaron de 1 a 3 septos, rectos, pero ligeramente curvos en la célula apical y célula basal aplanada (Figura 1C).

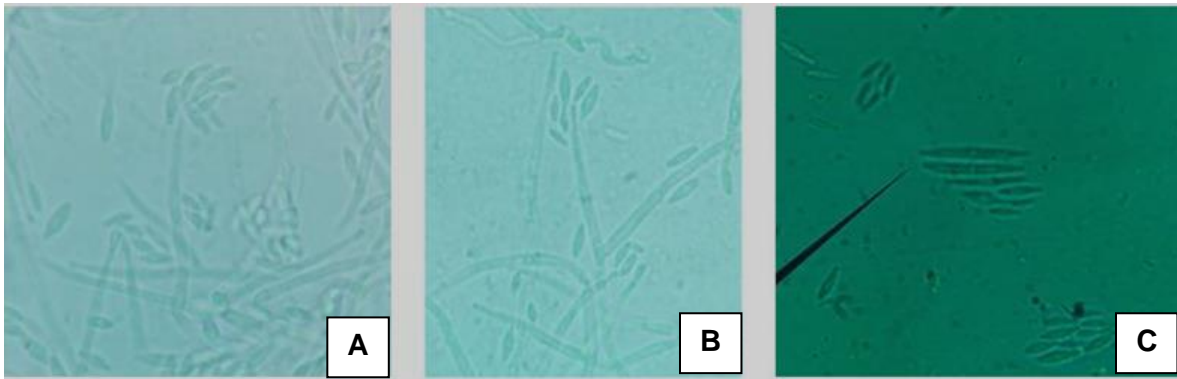


Figura 1. Microscopía para determinación de especie. **A y B.** Características de microconidios y fiálide. **C.** Forma de macroconidios

4.2 . Ensayo con solventes.

4.2.1 Ensayo de solubilidad de los aceites.

El solvente DMSO al 2% fue eficiente para la solubilización de los aceites de las especies *O. bataua* (Tabla 1) y *M. flexuosa*, ninguna de las concentraciones utilizadas de DMSO fue eficaz para solubilizar concentraciones más altas de aceite (35%, 30%, 25%, 20%), ya que se precipitaron (Figura 2, Tabla 1). Mientras que, los aceites de *C. nucifera* y *E. oleifera* (aceite rojo) fueron solubilizados en etanol al 1% (Tabla 1) y el aceite de *E. oleifera* (aceite negro) se solubilizó en Tween 80 al 1% al igual que el aceite de la especie *A. aculeata*, en donde las concentraciones 20%, 25%, 30% y 35% presentaron precipitaciones y partes del aceite sin solubilizar en la parte superior de la mezcla, en comparación a una concentración del 15% de aceite. Cabe resalta que todos los aceites se solubilizaron a 15%.

Tabla 1. Solventes utilizados y concentración respectiva para la solubilización de los respectivos aceites.

Solvente y concentración.	Aceite de palma
DMSO al 2%.	<i>O. bataua.</i>
	<i>M. flexuosa.</i>
Etanol al 1%.	<i>C. nucifera.</i>
	<i>E. oleífera</i> (aceite rojo).
Tween 80 al 1%.	<i>E. oleífera</i> (aceite negro).
	<i>A. aculeata.</i>

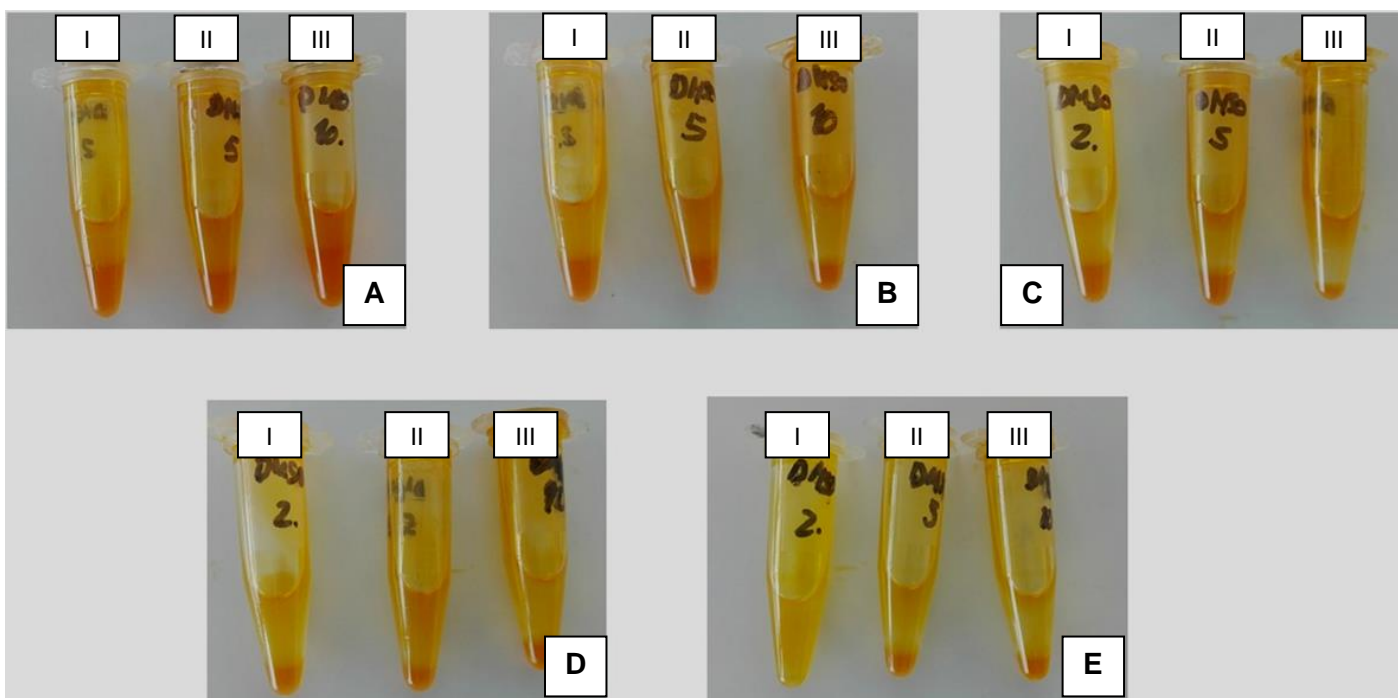


Figura 2. Solubilidad del aceite de *Mauritia flexuosa* con DMSO a diferentes concentraciones. **A.** Concentración de aceite a 35%. **B.** Concentración de aceite a 30%. **C.** Concentración de aceite al 25%. **D.** Concentración de aceite al 20%. **E.** Concentración de aceite al 15%.

- I. Concentración de DMSO al 2%.
- II. Concentración de DMSO al 5%.
- III. Concentración de DMSO al 10%.

4.2.2 Prueba antifúngica de los solventes.

Se evaluó la toxicidad de los solventes en el hongo, etanol y Tween 80 a concentraciones de 1%, DMSO en concentración de 2%. Ninguno de los solventes mencionados generó halo de inhibición, por consiguiente, los solventes seleccionados no afectaron el crecimiento micelial de *F. solani* (Figura 3). Es importante resaltar este resultado, ya que al no ser tóxicos para el crecimiento micelial los solventes no afectaron los resultados en la determinación del potencial antifúngico de los aceites.

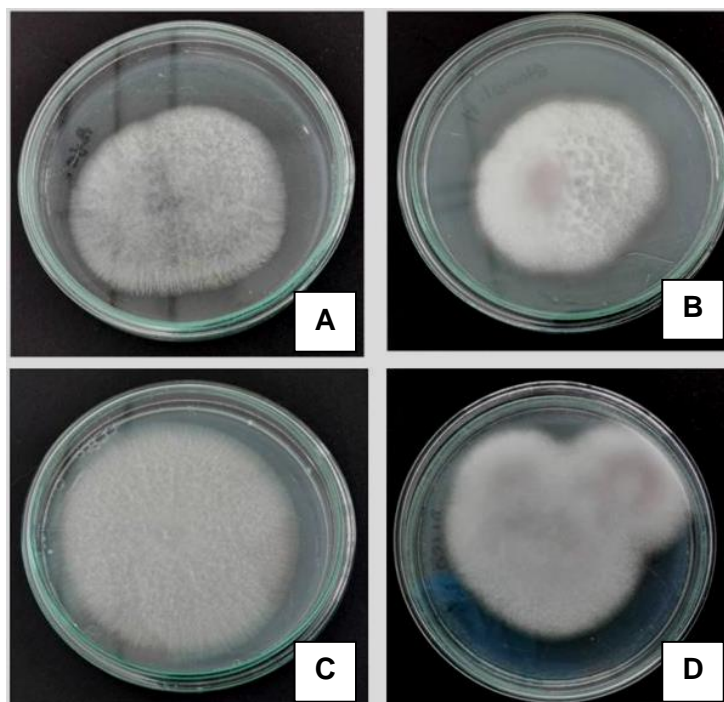


Figura 3. Prueba antifúngica de solventes. **A.** Control negativo. **B.** Etanol. **C.** Tween 80. **D.** DMSO.

De igual forma, se evaluó el efecto del etanol y DMSO a las concentraciones ya mencionadas en la inhibición de germinación de conidios, en donde los respectivos solventes generaron un porcentaje bajo como se puede observar en la Tabla 2. Este

resultado de igual forma fue importante, ya que los solventes no causaron resultados erróneos en el momento de establecer el potencial de los aceites en la inhibición de germinación de conidios.

Tabla 2. Porcentaje de inhibición de conidios de *F. solani* por etanol al 1%, DMSO al 2% y Tween 80 al 1%.

Solvente.	Porcentaje de inhibición de conidios.
Etanol al 1%.	1%.
DMSO al 2%.	0,5%.
Tween 80.	0.1%.

4.3 Prueba antifúngica de los aceites.

4.3.1 Prueba de susceptibilidad por perforación del agar

Al realizar la prueba de susceptibilidad de *F. solani* frente a las diferentes aceites, ninguno generó halo de inhibición. Mientras que, el control positivo (Carbendazim a 50 g/l) generó inhibición completa del hongo, como se puede observar en la Figura 4A y 4B.

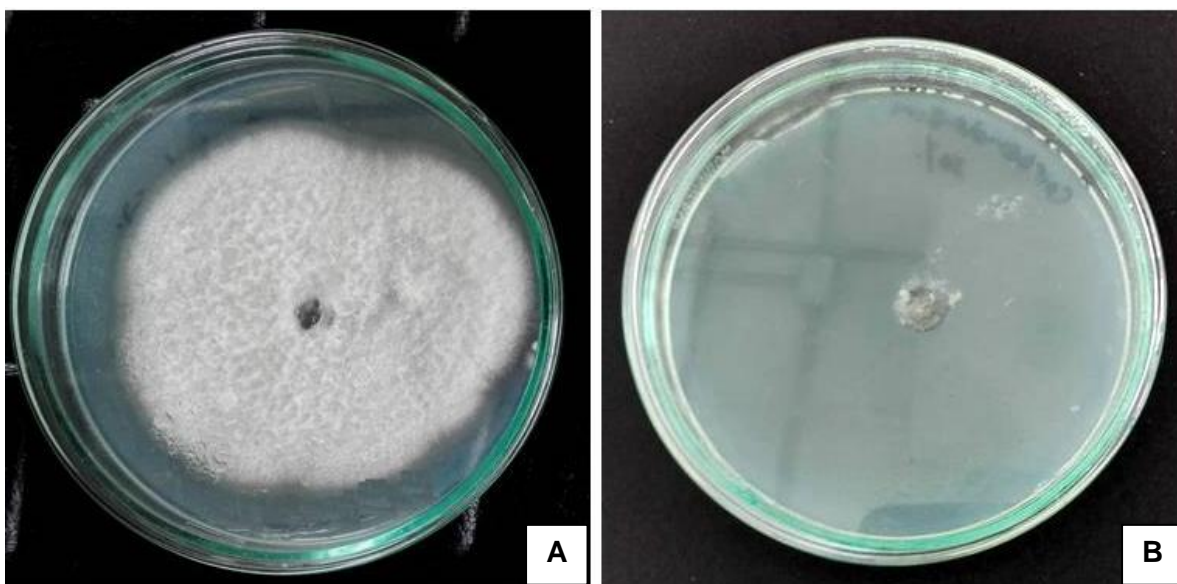


Figura 4. Susceptibilidad de *F. solani* frente al carbendazim en comparación con el control negativo. **A.** Control negativo. **B.** Efecto del Carbendazim.

4.3.2 Inhibición de crecimiento micelial por dilución en agar.

Como se puede observar en la Figura 6, los aceites que menor halo de crecimiento generaron fueron las especies *E. oleifera* (aceite rojo) y *M. flexuosa*, los cuales generaron 61,9% y 47,8% de inhibición de crecimiento micelial respectivamente, en donde según el test de Conover fueron estadísticamente iguales. Adicionalmente, el fungicida utilizado produjo 100% de inhibición siendo el más efectivo para este objetivo, y siendo estadísticamente igual al aceite de la especie *E. oleifera* (aceite rojo) (Figura 6). Mientras que, el aceite de la especie *C. nucifera* produjo un porcentaje de 22% (Figura 6) y un halo de crecimiento relativamente bajo (Figura 5). En cambio, los aceites *E. oleifera* (aceite negro), *O. bataua* y *A. aculeata*, fueron los aceites que permitieron mayor crecimiento del hongo, en comparación al control negativo (Figura 5) y por tanto causaron un menor porcentaje de inhibición de *F. solani* (Figura 6).

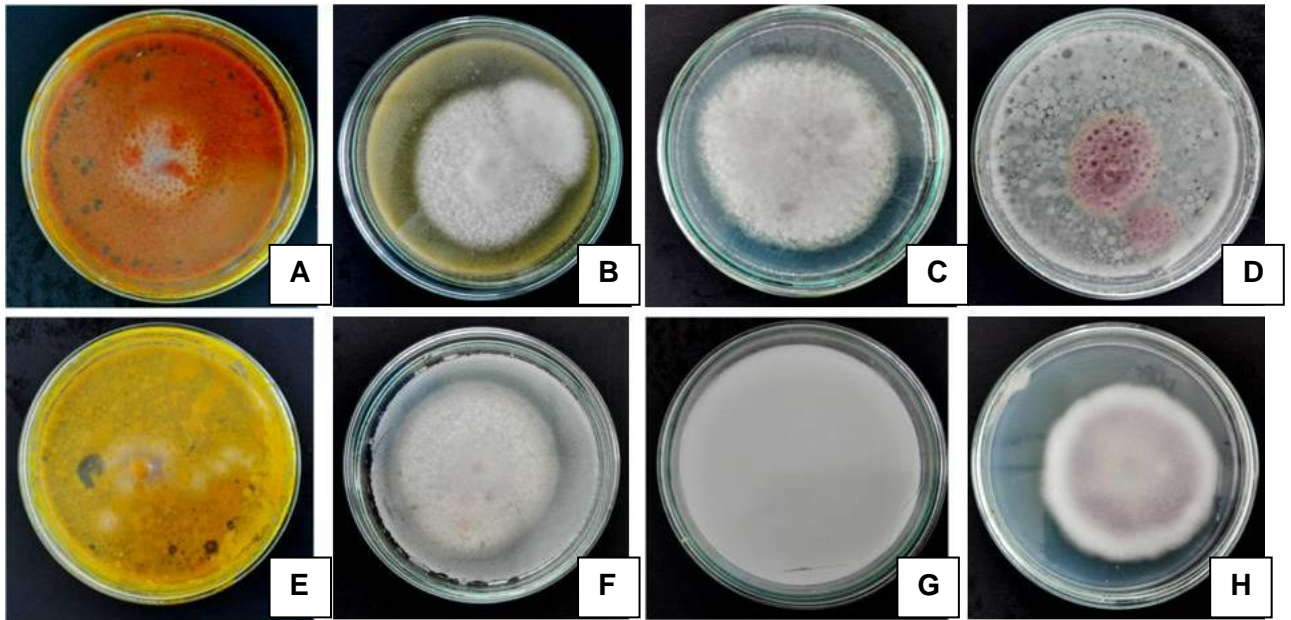


Figura 5. Halo de inhibición generado por los diferentes aceites a una concentración de 15% y control positivo, en comparación al control negativo. **A.** *Elaeis oleífera* (aceite rojo). **B.** *Elaeis oleífera* (aceite negro). **C.** *Oenocarpus batua*. **D.** *Cocos nucifera*. **E.** *Mauritia flexuosa*. **F.** *Acrocomia aculeata*. **G.** Carbendazim. **H.** Control negativo.

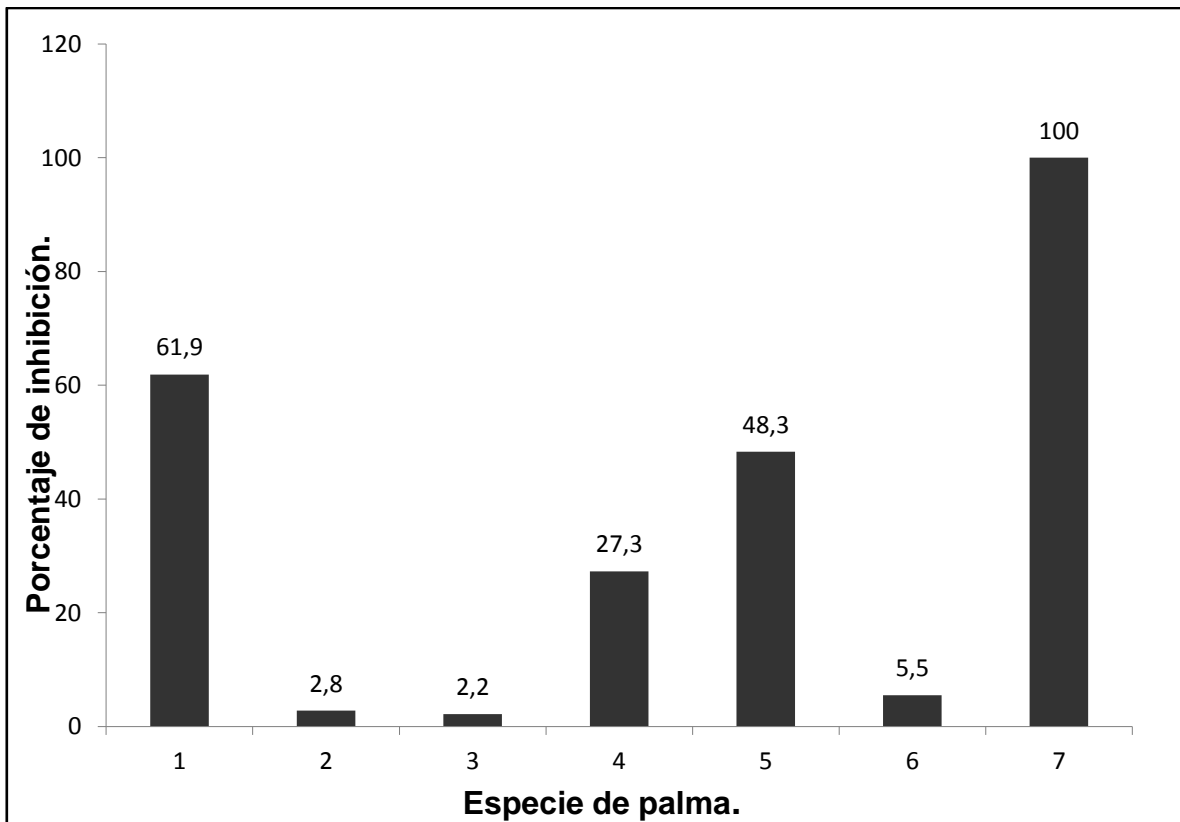


Figura 6. Porcentaje de inhibición de crecimiento micelial de *F. solani*. . . En el eje x se encuentran los aceites de frutos de las especies: 1. *E. oleifera* (aceite rojo), 2. *E. oleifera* (aceite negro), 3. *O. bataua*, 4. *C. nucifera*, 5. *M. flexuosa*, 6. *A. aculeata*, 7. Control positivo.

4. 4 Inhibición de germinación de conidios.

El aceite que causó mayor porcentaje de inhibición de geminación de conidios fue el de la especie *O. bataua* (95.3%), seguido por los aceites *C. nucifera* y *A. aculeata* generando inhibición del 47,5% y 44,9% respectivamente, siendo estadísticamente iguales según el test de Conover. Mientras que, los aceites de las especies *E. oleifera* (aceite rojo) (16,5%), *E. oleifera* (aceite negro) (8,5%), *M. flexuosa* (22,4%) y control positivo (22,5%) provocaron los porcentajes de inhibición más bajos (Figura 7), adicionalmente fueron estadísticamente iguales.

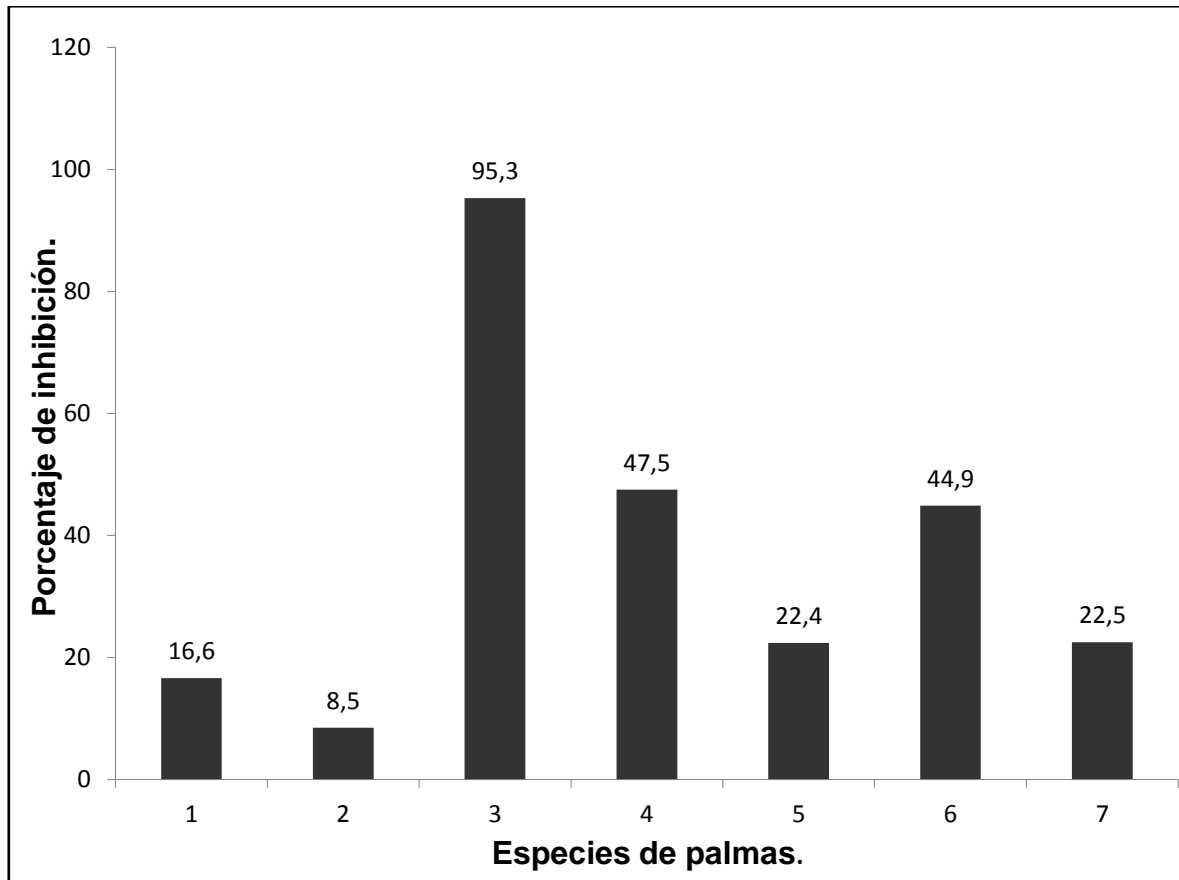


Figura 7. Porcentaje de inhibición de germinación de conidios. En el eje x se encuentran los aceites de frutos de las especies: 1. *E. oleifera* (aceite rojo), *E. oleifera* (aceite negro), 3. *O. bataua*, 4. *C. nucifera*, 5. *M. flexuosa*, 6. *A. aculeata*, 7. Control positivo.

5. DISCUSIÓN DE RESULTADOS.

5.1 Ensayo con solventes.

5.1.1 Ensayo solubilidad de aceites.

Los aceites de palma trabajados presentaron diferencias con respecto a los diferentes solventes necesarios para lograr su solubilidad en agua. En cuanto, a la solubilidad del aceite de coco con etanol al 1% (Tabla 1) fue acorde con los resultados obtenidos por Ogbulo y colaboradores (44), adicionalmente cabe recordar que este aceite presenta mayor solubilidad en alcoholes en comparación con otros solventes (53), esta fue la razón por la que no se observó solubilidad con DMSO y Tween 80. Esta misma concentración de etanol fue eficiente para la solubilización del aceite rojo de la especie *E. oleífera*, mientras que el aceite negro de esta misma especie se solubilizó en Tween 80 al 1% (Tabla 1). La diferencia en cuanto a la solubilidad del aceite negro y rojo de la especie *E. oleífera* se debe a que estos aceites provienen de diferente parte del fruto, por lo que su composición química puede ser distinta entre sí. El aceite *A. aculeata* fue soluble en Tween 80 al 1%, lo cual está de acuerdo con los resultados de López *et al* (51), en donde disolvieron diferentes aceites esenciales con este solvente a la misma concentración mencionada.

Para el caso del aceite de la especie *M. flexuosa* el solvente utilizado fue DMSO al 2% (Figura 3E) resultado que difiere con lo reportado por Soares y colaboradores (39), en donde utilizan como solvente Tween 80 al 1%, sin embargo, en este trabajo este solvente no fue óptimo para solubilizar el respectivo aceite. De igual forma, este solvente solubilizó el aceite de la especie *O. bataua*.

5.2 Prueba antifúngica de los solventes.

5.2.1 Toxicidad de DMSO al 2%.

Según los resultados mostrados en la Figura 3D y Tabla 2, el DMSO a una concentración de 2% no comprometió el crecimiento de *F. solani* y presentó un bajo efecto en el porcentaje de germinación de conidios, mostrando concordancia con las investigaciones realizadas por Rekha *et al* (54) y Tillman & Bean (55), en donde efectivamente mostraron que este solvente a concentraciones bajas no presentó ningún efecto negativo frente *F. oxysporum* y *F. roseum*.

5.2.2 Toxicidad del etanol al 1%.

Como se observó en los resultados, el etanol al 1% no presentó ningún efecto negativo en el crecimiento de *F. solani* (Figura 3B) o en la germinación de conidios (Tabla 2), dado a que recientemente se ha demostrado que *Fusarium* sp posee enzimas lignocelulóticas produciendo etanol por medio de la fermentación de glucosa y xilosa (56, 57), . Sin embargo, esta característica ha sido documentado únicamente para la especie *F. oxysporum*, en donde determinaron el crecimiento de esta especie con los azúcares mencionados anteriormente en condiciones aeróbicas y con diferentes concentraciones de etanol; este alcohol al 1%, no afectó drásticamente el crecimiento del hongo, no obstante, a concentraciones de etanol superiores del 4%, este compuesto es tóxico para el crecimiento de *F. oxysporum* (57).

5.2.3 Toxicidad de Tween 80 al 1%.

Según los estudios realizados por Figura *et al* (58) y por Nielsen *et al* (59) determinaron la toxicidad de Tween 80 en *S. aureus* y *Helicobacter pylori*, en donde demostraron que este solvente aumentó la tasa de crecimiento de *S. aureus*, mientras que presentó actividad antibacterial y sinérgica con algunos antibióticos frente *H. pylori*. Sin embargo, en este trabajo no se observó este efecto, ya que este solvente fue utilizado para solubilizar el aceite negro de la especie *E. oleífera*, el cual generó bajo porcentaje de inhibición en el crecimiento micelial y germinación de conidios. Adicionalmente, como se puede observar en la Figura 3C y Tabla 2 al comparar con el control negativo, el Tween 80 no afectó el crecimiento de *F. solani*. Asimismo, en varias metodologías se ha empleado este solvente tanto para la solubilidad de aceites esenciales como para recuento de conidios (45).

5.3 Prueba antifúngica de los aceites.

5.3.1 Prueba de susceptibilidad por perforación en agar.

Según los resultados obtenidos, esta metodología únicamente fue eficiente el control positivo (Carbendazim al 50 g/l), ya que presentó actividad del 100% siendo altamente tóxico para *F. solani*. Sin embargo, por medio de este método ninguno de los aceites generó halos de inhibición, en comparación con los resultados arrojados por la metodología de dilución en agar, ya que demostró la actividad antifúngica de las especies *E. oleífera* (aceite rojo) y *M. flexuosa* (Figuras 5 y 6).

A pesar de que los ensayos por difusión en agar son empleados para la determinación cualitativa de la susceptibilidad de un microorganismo hacia un antimicrobiano o extracto vegetal, dado a su baja sensibilidad (60), en este estudio se encontró que la difusión en pozo no fue la metodología correcta para demostrar la sensibilidad de *F. solani* frente a los diferentes aceites de frutos de palma, siendo opuesto a lo que propone Valgas *et al* (61), mencionando que esta técnica es la más eficiente para probar compuestos apolares, en este caso los aceites, dado a que no hay ningún elemento que impida la fácil difusión del aceite como sucede con la metodología de difusión en disco.

5.4 Inhibición de crecimiento micelial.

Los fungicidas son los compuestos químicos mayormente utilizados para el control de fitopatógenos, en especial de *F. solani*. Entre estos se encuentra el Carbendazim, el cual en varios estudios *in vitro* ha demostrado alta efectividad en el control de crecimiento micelial de varias especies de *Fusarium*, (4, 9, 17, 22), teniendo concordancia con este estudio, ya que a una concentración del 50 g/l de este fungicida generó 100% de inhibición de crecimiento micelial, siendo el porcentaje más alto obtenido para este objetivo, seguido por los aceites *E. oleífera* (aceite rojo) y *M. flexuosa*. Por lo que pueden ser incluidos los aceites anteriormente nombrados como alternativa en el control correctivo de *F. solani* además del Carbendazim, en especial el aceite de la especie *E. oleífera*, dado a que produjo más del 50% de inhibición con respecto al generado por el de la especie *M. flexuosa* (48.3%) (Figura 6)

La actividad antifúngica del aceite de la especie *C. nucifera* está documentada frente a especies de *Candida*, en donde no diluyeron el aceite para la inhibición de la levadura (36, 44). Sin embargo, frente a *F. solani* produjo un 22% de inhibición de crecimiento a una concentración de 15% de aceite.

5.5 Inhibición de germinación de conidios.

Para este caso, el fungicida utilizado generó un porcentaje de inhibición de conidios menor al 30%, ya que su modo de acción es inhibir el desarrollo de los tubos germinativos, la formación de apresorios y crecimiento micelial (62), además cabe recordar que los hongos no sólo se extienden por crecimiento micelial sino también por dispersión de conidios; por tanto, los resultados obtenidos con este fungicida indican que el Carbendazim no es un candidato potencial en el control preventivo. Mientras que, el aceite de la especie *O. bataua* fue altamente eficiente (95,3%) (Figura 7) en la inhibición de la germinación conidios, por lo

que en un futuro puede llegar a ser incluido como alternativa natural en el control preventivo de *F. solani*, igualmente los aceites de *C. nucifera* y *A. aculeata*. Cabe recordar que hasta el límite de nuestro conocimiento, no hay estudios de la actividad de aceites de frutos de palmas en la inhibición de germinación de conidios, por lo que es importante aumentar estos estudios para la implementación los controles naturales de *F. solani*.

Adicionalmente, se amplió el conocimiento sobre el aceite de la especie *M. flexuosa* en su actividad antimicrobiana, según el trabajo realizado por Soares *et al* (39) determinaron la actividad antibacteriana de este aceite frente a *S. aureus*, *B. subtilis* y *K. pneumoniae*, generando altos halos de inhibición.

De igual forma, se pudo determinar que el efecto de cada aceite en los objetivos trabajados fue totalmente independiente, ya que se obtuvieron resultados diferentes con respecto a los análisis realizados; como se pudo observar con los dos tipos de aceite de la especie *E. oleifera*, los cuales no presentaron actividad relevante en la inhibición de germinación de conidios, pero si se observó actividad del aceite rojo en la inhibición de crecimiento micelial, mientras que el aceite negro de *E. oleifera* presentó bajos porcentajes de inhibición para las dos pruebas realizadas. Este mismo patrón se ha observado en los estudios de Zaker (28), López *et al* (51) y Sharma *et al* (33), en donde una parte de los extractos de plantas utilizados fueron eficientes para inhibir el crecimiento micelial mientras que las plantas que no lograron la inhibición de micelio fueron eficientes para la inhibición de conidios.

6. CONCLUSIONES.

El aceite extraído de las semillas del fruto de la especie *E. oleifera* no presentó potencial antifúngico frente a *F. solani*. Mientras que, el aceite del mesocarpo de esta misma presentó actividad inhibitoria de crecimiento micelial, es importante incrementar los estudios de este aceite de diferentes microorganismos.

Los aceites con potencial antifúngico en cuanto a la inhibición de crecimiento micelial fueron: *E. oleifera* (aceite rojo) y *M. flexuosa* a una concentración del 15%. Mientras que, para la inhibición de germinación de conidios los aceites con potencial antifúngico fueron: *O. bataua*, *C. nucifera* y *A. aculeata* al 15%.

El fungicida Carbendazim es altamente tóxico para el crecimiento micelial de *F. solani*, pero no para la germinación de conidios

RECOMENDACIONES.

En cuanto a la determinación del potencial del aceite de la especie *C. nucifera*, sería interesante implementar mayor cantidad de solventes a diferentes concentraciones, para la solubilización del aceite a una mayor concentración y determinar si se requieren de mayores concentraciones de este aceite para un mayor porcentaje de inhibición de crecimiento micelial en *F. solani*, o evaluar fracciones químicas del aceite.

7 . BIBLIOGRAFÍA.

1. Dignani MC, Anaissie E (2004) Human fusariosis. Clin Microbiol Infect. 10(1): 67-75.
2. Nucci M, Anaissie E (2007) *Fusarium* infections in inmunocompromised patients. Clin Microbiol Rev. 20(4): 695-704.
3. Abdullah MS, Meis JF, Sybren de Hoog G (2016) *Fusarium*: Molecular diversity and intrinsic drug resistance. PLoS Pathog 12(4): 1-8.
4. Mahmood Y, Khan MA, Javed N, Arif MJ (2015) Comparative efficacy of fungicides and biological control agents for the management of chickpea wilt caused by *Fusarium oxysporum* F. sp. *Ciceris*. J Anim Plant Sci . 25(4): 1063-1071.
5. Sabatelli F, Payel R, Mann PA, Mendrick CA, Norris CC, Hare R, Loebenberg D, Black TA, McNicholas PM (2006) In vitro activities of posaconazole, fluconazole, itraconazole, voriconazole and amphotericin B against a large collection of clinically important molds and yeasts. Antimicrob Agents Chemother. 50(6): 2009-2015.
6. Chiotta ML, Chulze S, Barros G (2015) Fuentes de inóculo de especies de *Fusarium* potenciales productores de micotóxicas en el agroecosistema soja. FCA Uncuyo. 47(2): 171-184.
7. Nir-Paz R, Strahilevitz J, Shapiro M, Keller N, Goldschmied-Reouven A, Yarden O, Block C, Polacheck (2004) Clinical and epidemiological aspects of infections caused by *Fusarium* Species: A collaborative study from Israel. J Clin Microbiol . 42(8): 3456-3461

8. Abdullah MS, Curfs-Breuker I, Sybren de Hoog G, Meis JF, Werweij PE (2017) Antifungal susceptibility testing of *Fusarium*: A practical approach. *J Fungi* . 3(19). <https://doi.org/10.3390/jof3020019>
9. Maitlo SA, Syed RN, Rustamani MA, Khuhro RD, Lodhi AM (2014) Comparative efficacy of different fungicides against *Fusarium* wilt of chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Pak J Bot* 46(6): 2305-2312.
10. Ragab MMM, Ashou AMA, Abdel-Kader MM, El-Mohamdy R, Abdel-Aziz A (2012) In vitro Evaluation of Some Fungicides Against *Fusarium oxysporum* the Casual of Wilt Disease of Pepper (*Capsicum annum* L.). *J Agri For.* 2(2): 70-77.
11. Castro-Caicedo BL, Timmer LW, Müller GW, Corrales-Giraldo JA (2000) Enfermedades de los cítricos en Colombia. Fondo Nacional de Fomento Hortifrutícola.
12. Saremi H, Okhovvat SM, Ashrafi SJ (2011) *Fusarium* diseases as the main soil borne fungal pathogen on plants and their control management with soil solarization in Iran. *Afri J Biotechnol* . 10(80): 18391-18398
13. Alastruey-Izquierdo A, Cuenca-Estrella M, Monzón A, Mellado E, Rodríguez-Tudela JL (2008) Antifungal susceptibility profile of clinical *Fusarium spp.* isolates identified by molecular methods. *J Antimicrob Chemother* . 61: 805-809.
14. Lewis RE, Wiederhold NP, Klepser ME (2005) In vitro pharmacodynamics of amphotericin B, itraconazole and voriconazole against *Aspegillus*, *Fusarium* and *Scedisporium* spp. *Antimicrob Agents Chemother* . 49(3): 945-951.
15. Azor M, Gené J, Cano J, Guarro J (2007) Universal in vitro antifungal resistance of genetic clades of the *Fusarium solani* species complex. *Antimicrob Agents Chemother.* 51(4): 1500-1503.
16. Azor M, Cano J, Gené J, Guarro J (2009) High genetic diversity and in vitro response to antifungals of clinical strains of *Fusarium oxysporum*. *J Antimicrob Chemother* . 63: 1152-1155.
17. Taskeen UN, Wani AH, Yaqud MB, Pala SA, Mir RA (2011) In vitro inhibitory effect of fungicides and botanicals on mycelia growth and spore germination of *Fusarium oxysporum*. *JBP* . 4(1): 53-56

18. Pavela R, Benelli G (2016) Essential oils as ecofriendly biopesticides: Challenges and constraints. *Trends Plant Sci.* (12): 1000-1007.
19. Celis A, Mendoza C, Pachón M, Cardona J, Delgado W, Cuca LE (2008) Extractos vegetales utilizados como biocontroladores con énfasis en la familia Piperaceae. Una revisión *Agronomía Colombiana* 26(1): 97-106.
20. Kaji A, Tiwari RD (2009) Antifungal activity of crude extracts of some medicinal plants against *Fusarium solani*. *Ecos.* 16: 75-78.
21. Dwivedi SK, Dwivedi N (2012) Antifungal Activity of some plant extract wilt pathogen. *Inter J Environ Sci Technol.* 3(1): 412-420.
22. Dissanayake MLMC (2014) Inhibitory effect of selected medicinal plant extracts on phytopathogenic fungus *Fusarium oxysporum* (Nectriaceae) Schlecht, Emend Snyder and Hansen. *Annu Res Rev Bio.* 4(1): 133-142.
23. Gakuubi MM, Maina AW, Wagacha JM (2017) Antifungal activity of essential oil of *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh. against selected *Fusarium spp.* *Int J Microbiol* (2017) <https://doi.org/10.1155/2017/8761610>.
24. Abd-El-Khar H, Nadía EG (2011) Effects of aqueous extracts of some plant species against *Fusarium solani* and *Rhizoctonia solani* in *Phaseolus vulgaris* plants. *Archives of phytopathology and plant protection.* (44(1): 1-16.
25. El-Shennawy MZ, Abozid MM (2017) Chemical composition, antioxidant and antifungal activities of three essential oils against fungal pathogens causing damping-off and root-rot diseases in pea. *Der Pharma Chemica.* 9(8): 85-93.
26. Paškevičius A, Švedienė J, Levinskaite L, Repečkienė J, Raudonienė V, Melvydas V (2014) The effect of bacteria and essential oils on mycotoxin producers isolated from feed of plant origin. *Vet Med Zoot.* 87: 52-62.
27. Abdallah M, Elgorban, Ali H, Bahkali, Mohamed A, El-Metwally, Mohamedlsheshtawi, Mohamed A, Abdel-Wahab, 2015. In vitro antifungal activity of some plant essential oils. *International Journal of Pharmacology*, 11: 56-61.

28. Zaker M (2014) Antifungal evaluation of some plant extracts in controlling *Fusarium solani*, the casual agent of potato dry rot in vitro and in vivo. Inter J Agri Biosci. 3(4): 190-195.
29. Abkhoo J, Jahani S, (2017) Efficacy of some medicinal plants extracts for potential antifungal activity, Int J Infect. 4(1): e41156
30. Arzoo K, Biswas SK (2013) Evaluation of antifungal activity of medicinal plant extracts against *Fusarium oxysporum* f.sp *lycopersici*. Agriways. 1(1): 54-55.
31. Ashrafi-Neela F, Ara-Sonia I, Shamsi S, (2014) Antifungal activity of selected medicinal plant extracts on *Fusarium oxysporum* Schlechtthe causal agent of *Fusarium* wilt disease in tomato. Am J Plant Sci. 5: 2665-2671.
32. Rongai D, Pulcini P, Pesce B, Milano F (2015) Antifungal activity of some botanical extracts on *Fusarium oxysporum*. Open Life Sci. 10: 409-416.
33. Sharma A, Rajendran S, Srivastava A, Sharma S, Kundu B (2016) Antifungal activities of selected essential oils against *Fusarium oxysporum* f.sp *lycopersici* 1322, with emphasis on *Syzygium aromaticum* essential oil. J Biosci Bioeng. 123(3): 308-313.
34. Valois-Cuesta H, Martinez-Ruiz C, Rentería-Cuesta YY, (2013) Diversidad, patrones de uso y conservación de palmas (Arecaceae) en bosques pluviales del Chocó, Colombia. Rev Biol Trop. 61(4): 1869-1889.
35. Alves SV, Aiko PH, Malesso MJ, Carneiro da Costa E, Pott A (2015) Physical and nutritional assessment of fruits of *Acrocomia aculeata* (Jacq.) Loss ex Mart. (Arecaceae) based on pulp color. Rev Biodivers Neotrop. 5(2):89-95.
36. Durai R, Sumathi G, Nasimuddin S (2016) A study on *In vitro* antimicrobial activity of coconut water and coconut oil on gram positive and gram negative bacteria. World J Pharm Med Res. 5(8): 696-700.
37. Shenoy SM, Veena AS, Bhat V (2014) Comparative evaluation of antimicrobial activity of the essential plant oils on multidrug resistant nosocomial pathogens. Int J Pharm. 4(2): 372-377.

38. Tabassum N, Vidyasagar GM (2014) *In vitro* antimicrobial activity of edible oils against human pathogens causing skin infections. *Int J Pharm Sci Res.* 5(10): 4493-4498.
39. Soares-Batista J, Gomes-Olinda R, Brasil-Medeiros V, Filgueira-Rodrigues CM, Freitas –Oliveira A, Souza-Paiva E, Alves-Freitas CI, Da Cunha-Medeiros A (2012) Atividade antibacteriana e cicatrizante do óleo de buriti *Mauritia flexuosa* L. *Cien Rural.* 42(1): 136-141
40. Lescano CH, Oliveira LP, Silva LR, Baldivia DS, Sanjinez-Argandoña EJ, EJ Arruda, Moraes ICF, Lima FF (2015) Nutrients content, characterization and oil extraction from *Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd fruits. *Afri J Food Sci .* 9(3): 113-119.
41. Tocarto AI, Mahmoud TS, Nobre L. Do Nascimento G, Fonseca –Moreirada Silca J, Sanzio RP, Benavides de Morais P (2016) Chemical composition and Antimicrobial potential of palm leaf extracts from babacu (*Attalea speciosa*), Buriti (*Maurita flexuosa*) and Macaúba (*Acrocomia aculeata*). *Sci World J.* 2016. <https://doi.org/10.1155/2016/9734181>.
42. Mesa L, Galeano G (2013) Usos de las palmas de la amazonia colombiana. *Caldasia.* 35(2) 351-369.
43. Sosnowska J, Balslev H (2009) American palm enthomecide: a meta-analysis. *J Etnobiol Ethnomed .* 5:43.
44. Ogbolu DO, Oni AA, Dain OA, Oloko AP (2007) *In vitro* antimicrobial properties of coconut oil *Candida* species in Ibadan, Nigeria. *J Med Food* 10(2): 384-387.
45. De García MCC, Restrepo-Restrepo S, Franco-Molano AE, Cárdenas-Toquica M, Vargas-Estupiñán N. (2012). *Biología de hongos.* Universidad de los Andes, Facultad de Ciencias, Departamento de Ciencias biológicas. Ediciones Uniandes.
46. Yanguí T, Bouaziz M, A. Dhouib S, Sayadi (2009) Potential use of Tunisian *Pituranthos chloranthus* essential oils as a natural disinfectant *SfAM* 48: 112–117
47. Bassolé IHN, Lamien-Meda A, B. Bayala L.C, Obame A.J, Ilboudo C, Franz J, Novak R.C, Nebié, MH, Dicko MH (2011) Chemical composition and antimicrobial activity of *Cymbopogon citratus* and *Cymbopogon giganteus* essential oils alone and in combination. *Phytomedicine.* 18: 1070– 1074

48. Tohidpour A, Sattari M, Omidbaigi R, Yadegar A, Nazemi J (2010) Antibacterial effect of essential oils from two medicinal plants against Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *Phytomedicine*, 17(2): 142-145.
49. Bassolé IHN, Lamien-Meda A, Balé B, Souleymane T, Chlodwig F, Johannes N, Nebié RC, Dicko MH (2010) Composition and Antimicrobial Activities of *Lippia multiflora*, *Mentha x piperita* L. and *Ocimum basilicum* L. Essential Oils and Their Major Monoterpene Alcohols Alone and in Combination. *Molecules* 15: 7825-7839.
50. Souza KG, Schuquel ITA, Marques VM, Correia AB, Rocigatte LUC, Gois ALTR, Shiozawa L, De Carvalho JE, Garcia FP, Kaplum V, Da Silva Rodrigues JH, Scariot DB, Delvecchio R, Machado-Ferreira E, Santana R Soares CAG, Nakamura CV, De Oliveira Santin SM, Pomini AM (2017) X-ray structure of *o*-methyl-acrocol and anti-cancer, anti-parasitic, anti-bacterial and anti-zika virus evaluations of the brazilian palm tree *Acrocomia totai*. *Ind Crops Prod.* 109: 483-492.
51. López-Meneses AK, Plascencia-Jatomea M, Lizardi-Mendoza J, Rosas-Burgos EC, Luque-Alcaraz AG, Cortez-Rocha MO (2015) Antifungal and antimycotoxigenic activity of essential oils from *Ecalyptus globuls*, *Thymus capitatus* and *Schinus molle*. *Food Sci Technol.* 25(4): 664-671.
52. Dwivedi SK, Sangeeta (2015) Efficacy of some medicinal plant extracts *against Fusarium oxysporum f sp. Ciceri* causing chickpea wilt. *As J Crop Sci.* 7(2): 138-146.
53. Krishna AG, Raj G, Singh Bhatnagar A, Prasanth Kumar PK, Chandrashekar p (2009) Coconut oil: Production and its applications. A review. *Indian Cocon J.* 53(3): 15-27.
54. Rekha P, Chandra Mouli B, Vijaya Kumari SG, Indumathi C, Mithyantha MS (2006) Studies on the identification of suitable solvents for microbial bioassay. *Current Science.* 90(12): 1663-1667.
55. Tillman RW, Bean GA (1970) Tentative identification and influence of storols and dimethyl sulfoxide (DMSO) on the growth and survival of *Fusarium roseum*. *Mycologia.* 62(3): 428-436.
56. Singh A, Kumar PKR (1991) *Fusarium oxysporum*: Status in bioethanol production. *Critical Reviews in Biotechnology.* 11(2): 129-147.

57. Paschos T, Xiros C, Christakopoulos P (2015) Ethanol effect on metabolic activity of the ethalogenic fungus *Fusarium oxysporum*. BMS Biotechnology. 15(15) <https://doi.org/10.1186/s12896-015-0130-3>
58. Figura N, Marcolongo R, Cavallo G, Santucci A, Collodel G, Spreafico A, Moretti E (2012) Polysorbate 80 and *Helicobacter pylori*: A microbiological and ultrastructural study. BMC Microbiology. 12(217): 1-10.
59. Nielsen CK, Kjems J, Mygind T, Snabe T, Meyer RL (2016) Effectws of Tween 80 on growth and biofilm formation in laboratory media. Frontiers in Microbiology. 7: 1878.
60. Osés SM, Maté AP, De la Fuente D, De Pablo A, Fernández-Muiño AM, Sancho MT (2016) Comparison of methods to determine antibacterial activity of honeys against *Staphylococcus aureus*. NJAS. 78: 29-33.
61. Valgas C, Manchado de Souza S, Smânia EFA, Smânia Jr A (2007) Screening methods to determine antibacterial activity of natural products. Braz J Microbiol. 38: 369-380.
62. Agrosiembra s.f. Curacarb 50 sc.
http://www.agrosiembra.com/nc=CURACARB_50_SC-191