

Efecto de agroinsumos y aceites esenciales en el suelo de hortalizas en el Caribe colombiano

Effect of agricultural inputs and essential oils on the soil of vegetables in Colombia's Caribbean region

Efeito de agroinsumos e óleos essenciais no solo de hortaliças no Caribe colombiano

Eduardo Mena-Rodríguez,¹ Mailen Ortega-Cuadros,² Luciano Merini,³
Aslenis Emidia Melo-Ríos,⁴ Adriana Tofiño-Rivera^{5*}

¹ Subdirector, Servicio Nacional de Aprendizaje (SENA), Centro Biotecnológico del Caribe (CBC).
Valledupar, Colombia. Correo: eomena@sena.edu.co

² Estudiante de maestría en Microbiología y Bioanálisis, Universidad de Antioquia. Medellín, Antioquia.
Correo: mailen.ortega@udea.edu.co. orcid.org/0000-0002-4977-1709

³ Investigador, Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (Conicet), Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Estación Experimental Agropecuaria Anguil. Anguil, Argentina.
Correo: merini.luciano@inta.gob.ar. orcid.org/0000-0002-2533-8601

⁴ Estudiante de maestría en Ciencias Ambientales, Fundación Universitaria Iberoamericana (Funiber).
Docente, Universidad Popular del Cesar, grupo de investigación Parasitología y Agroecología Milenio. Valledupar, Colombia.
Correo: aslenismelo@unicesar.edu.co. orcid.org/0000-0002-4340-7594

⁵ Investigador PhD asociado, Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (Corpoica),
Centro de Investigación Motilonia. Codazzi, Colombia. Correo: atofino@corpoica.org.co.
Investigadora, Universidad de Santander (UDES), Facultad de Ciencias de la Salud, Grupo de Investigación Cienciaudes.
Valledupar, Colombia. Correo: ad.tofino@mail.udes.edu.co. orcid.org/0000-0001-7115-7169

Fecha de recepción: 20/10/2016

Fecha de aceptación: 12/05/2017

Para citar este artículo: Mena-Rodríguez, E., Ortega-Cuadros, M., Merini, L., Melo-Ríos, A. E., & Tofiño-Rivera, A. (2018).
Efecto de agroinsumos y aceites esenciales en el suelo de hortalizas en el Caribe colombiano.
Corpoica Ciencia y Tecnología Agropecuaria, 19(1), 103-124.

DOI: https://doi.org/10.21930/rcta.vol19_num1_art:535

* Autor de correspondencia. Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (Corpoica), Centro de Investigación Motilonia, kilómetro 5 vía a Becerril, Agustín Codazzi-Cesar, Colombia.

Resumen

El aporte de las hortalizas a la seguridad alimentaria y al desarrollo económico de Colombia, así como a la problemática ambiental mundial, justifica el interés de diseñar estrategias productivas sostenibles para la agrocadena. Se desarrolló un estudio con el fin de evaluar el efecto de la aplicación de aceites esenciales y agroinsumos en cultivos de ají, fríjol y berenjena en Codazzi, Cesar. La metodología incluyó el análisis de compatibilidad de pesticidas utilizados en estas hortalizas y aceites de *Lippia alba* y *Cymbopogon citratus*, en lo que se refiere al efecto biocida *in vitro* en cepas nativas de *Macrophomina phaseolina*, *Phytophthora capsici* y *Colletotrichum gloeosporioides*. En campo, se aplicó tiabendazol de manera individual y combinado con los aceites. Se midieron indicadores fisicoquímicos y microbiológicos del suelo, la

incidencia de plagas y enfermedades, y el rendimiento de los cultivos. *In vitro*, los aceites controlaron hasta el 97% de los fitopatógenos y mostraron compatibilidad con carbendazim y tiabendazol. En campo, se observaron un control de enfermedades de hasta el 67% con *C. citratus* + tiabendazol respecto al testigo ($p = 0,00$), rendimientos cercanos al promedio regional, y mejores condiciones microbiológicas y fisicoquímicas del suelo. En conclusión, existen diferencias en el efecto edáfico entre tratamientos, ya que el agroquímico y la combinación de aceites fueron más favorables que el efecto individual de cada producto en las variables evaluadas. Lo anterior exhorta a continuar realizando evaluaciones con aceites en campo, para dilucidar la duración de los efectos descritos.

Palabras clave: aceites esenciales, *Capsicum*, Codazzi, Cesar (Colombia), control biológico, *Phaseolus vulgaris*, *Solanum melongena*

Abstract

The contribution of vegetables to food security and economic development in Colombia, as well as to environmental problems worldwide, justifies the interest to design sustainable production strategies for the agro-chain. This study was developed to evaluate the effect of the application of essential oils and agricultural inputs in chili peppers, beans and eggplants in Codazzi, Cesar, Colombia. The methodology included the compatibility analysis between pesticides used in these vegetables, and *Lippia alba* and *Cymbopogon citratus* oils in relation to their biocidal effect *in vitro* on native strains of *Macrophomina phaseolina*, *Phytophthora capsici* and *Colletotrichum gloeosporioides*. Applications of thiabendazole in an individual basis and combined with oils were carried out in the field.

Physicochemical and microbiological indicators of soil, pests and diseases incidence and crop yield were measured. Oils controlled up to 97% of plant pathogens *in vitro* and exhibited compatibility with carbendazim and thiabendazole. In the field, up to 67% of disease control was observed with *C. citratus* + thiabendazole compared to the control ($p = 0.00$), yields were close to the regional average, and better microbiological and physicochemical soil conditions were observed. In conclusion, there are differences in the edaphic effect between treatments, as the agrochemical and the oil combinations were more favorable than the individual effect of each product on the variables evaluated. The above exhorts to continue soil evaluations with oils to elucidate the duration of the described effects.

Keywords: Biological control, *Capsicum*, Cesar (Colombia), Codazzi, essential oils, *Phaseolus vulgaris*, *Solanum melongena*

Resumo

A contribuição das hortaliças para a segurança alimentícia e para o desenvolvimento econômico da Colômbia, bem como para a problemática ambiental mundial, justifica o interesse de elaborar estratégias produtivas sustentáveis para a agropecuária. Desenvolveu-se um estudo com o objetivo de avaliar o efeito da aplicação de óleos essenciais e agroinsumos em cultivos de *aji* (*Capsicum annuum*), feijão e berinjela em Codazzi, Cesar. A metodologia incluiu a análise de compatibilidade de pesticidas utilizados nessas hortaliças e óleos de *Lippia alba* e *Cymbopogon citratus*, no que se refere ao efeito biocida *in vitro* em cepas nativas de *Macrophomina phaseolina*, *Phytophthora capsici* e *Colletotrichum gloeosporioides*. Em campo, aplicou-se tiabendazol de maneira individual e combinado com os óleos. Foram medidos

indicadores físico-químicos e microbiológicos do solo, a incidência de pragas e doenças, e o desempenho dos cultivos. *In vitro*, os óleos controlaram até 97% dos fitopatógenos e mostraram compatibilidade com carbendazim e tiabendazol. Em campo, foi observado um controle de doenças de até 67% com *C. citratus* + tiabendazol a respeito do grupo controle ($p=0,00$), desempenhos próximos à média regional, e melhores condições microbiológicas e físico-químicas do solo. Em conclusão, existem diferenças no efeito edáfico entre tratamentos, já que o agroquímico e a combinação de óleos foram mais favoráveis que o efeito individual de cada produto nas variáveis avaliadas. Isso leva a continuar realizando avaliações com óleos em campo, para dilucidar a duração dos efeitos descritos.

Palavras chave: *Capsicum*, Codazzi, Cesar (Colombia), controle biológico, óleo essencial, *Phaseolus vulgaris*, *Solanum melongena*

Introducción

Los indicadores de la cadena de hortalizas presentan un mercado mundial creciente. De acuerdo con informes de la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) (2014), se registra una producción de 276 millones de toneladas al año, que es favorecida por la preferencia del consumidor por productos saludables, con características nutraceuticas (Corporación Colombia Internacional [CCI], 2015; Quipo, Rojas, Ramírez, & Ordóñez, 2013).

De igual forma, en Colombia esta cadena constituye un importante renglón económico, con una producción bruta de 1.495.835 t en 2015 (Departamento Administrativo Nacional de Estadística [DANE], 2016). Dentro de este subsector agrícola, en el Caribe, productos como el frijol (*Phaseolus vulgaris* L. [Fabaceae]), el ají (*Capsicum* spp. [Solanaceae]) y la berenjena (*Solanum melongena* L. [Solanaceae]) hacen una especial contribución a la seguridad alimentaria.

Esto se demuestra en el hecho de que en 2013 la producción de ají ascendió a 7.735 t, la de berenjena a 2.496 t y la de frijol a 5.560 t, y en que el Plan Nacional Hortícola promueve el incremento de la productividad para favorecer la exportación (CCI, 2015). Sin embargo, la proyección a mercados tan selectivos como Estados Unidos y la Unión Europea requiere la aplicación de buenas prácticas agrícolas (BPA) (Gaviria, Patiño, & Saldarriaga, 2013).

No obstante, en el Caribe los sistemas productivos con alternativas sostenibles son escasos, y los impactos que causa la agricultura convencional son cada vez más fuertes (Tofiño, Velásquez, & Zapata, 2016). El manejo integrado de cultivos está limitado, entre otras razones, por la escasez de estudios de compatibilidad entre los bioinsumos y los agroquímicos que se usan comúnmente en hortalizas (Melo, Ariza, Lissbrant, & Tofiño, 2015), así como por el desconocimiento de los productores de aspectos relevantes del uso de bioinsumos como estrategia de manejo.

A lo anterior se suma el efecto del cambio climático, que disminuye los intervalos de ocurrencia normal

del patrón denominado El Niño-Oscilación del Sur (ENOS), que afecta la dinámica, ocasiona el resurgimiento de plagas y enfermedades, y eleva los costos de producción (Lau, Jarvis, & Ramírez, 2013).

Los estreses bióticos y su control convencional afectan de manera negativa la productividad e inocuidad de los productos agrícolas, en especial del pequeño y mediano productor, debido al uso de productos poco selectivos y altamente residuales que causan grandes pérdidas agrícolas, sobre todo al pequeño y mediano productor, y afectan la salud pública y la seguridad alimentaria (Criollo, Lagos, Piarpuezan, & Pérez, 2011).

Entre las prácticas sostenibles para mejorar el estado sanitario de los cultivos se encuentran los cultivos asociados y el uso de bioinsumos y aceites esenciales para el control de patógenos (Villa et al., 2015). Se ha encontrado que aceites esenciales de limoncillo (*Cymbopogon citratus*) cumplen una acción antifúngica contra *Colletotrichum acutatum*, con una efectividad de más del 60% (Alzate, Mier, Afanador, Durango, & García, 2009). De igual forma, el uso de bioinsumos como *Trichoderma* spp. constituye una alternativa viable para el control de patógenos (Landerero et al., 2015).

Sin embargo, aunque en el Caribe seco colombiano son pocos los estudios sobre la inclusión de bioinsumos en hortalizas, se registró que agroquímicos no fungicidas, como herbicidas e insecticidas, influyen en el cambio de la población microbiana del suelo y la prevalencia de patógenos (Gaviria et al., 2013; Tofiño, Cabal, & Gil, 2012).

Además, investigaciones preliminares acerca del efecto *in vitro* de *C. citratus*, agroquímicos y *Trichoderma* spp. en el control de *Colletotrichum gloeosporioides* indican que dichos biocidas son efectivos cuando son usados individualmente (Tofiño, Chinchilla, & Ortega, 2016).

Teniendo en cuenta lo anterior, se realizaron ensayos integrados, con el fin de evaluar el impacto de la aplicación, tanto individual como combinada, de fungicidas del paquete tecnológico convencional regional con aceites esenciales en cultivos de ají, frijol y berenjena en Codazzi, Cesar, Colombia.

Estas acciones tuvieron el objetivo de avanzar en el conocimiento del efecto de productos químicos utilizados en conjunto en la sanidad y el rendimiento hortícola, validar el uso de los aceites esenciales en el control de patógenos de interés, y verificar el posible efecto de los controles utilizados en variables del suelo sensibles al manejo agronómico. Esta información puede contribuir a la formulación de estrategias de BPA para la ecorregión de estudio.

Materiales y métodos

Aceites esenciales

La cosecha de plantas para la extracción de aceites esenciales se realizó manualmente, a partir de material foliar sano que no había sido sometido a planes de fertilización o uso de agroquímicos, clasificado en el herbario José Cuatrecasas de la Universidad Nacional, sede Palmira: *C. citratus* (DC.) Stapf. (Poaceae) (código 4952 20/10/2014) y *Lippia alba* (Mill.) N. E. Br. ex Britton & P. Wilson (Verbenaceae) (código 4863 18/10/2014).

El aceite esencial de *C. citratus* se extrajo en el resguardo indígena Kankuamo en Atánquez, Valledupar, con una humedad relativa entre el 56% y el 74%, en cultivos en suelo franco y ligeramente ácido, una fertilidad alta y un 2% de materia orgánica, y un rendimiento en la extracción del 0,71%.

El aceite esencial de *L. alba* se extrajo en el laboratorio de productos naturales de la Universidad de Córdoba, de plantas cosechadas en el Centro de Investigación Motilonia, de la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (Corpoica), cuya humedad relativa es del 70,1%, tiene un suelo franco-arcilloso y ligeramente ácido, una fertilidad moderada y un 1% de materia orgánica, con un rendimiento del 0,5%.

La extracción de ambos aceites esenciales se realizó a partir de 1 kg de material vegetal fresco, mediante destilación por arrastre con vapor, sin solvente, durante tres horas; se conservaron en viales color ámbar, con tapas de rosca de sellado hermético, y se almacenaron en refrigerador a 4 °C.

Ambos aceites se analizaron en el laboratorio de productos naturales de la Universidad de Córdoba, a través de una evaluación fitoquímica, mediante cromatografía de gases (GC), con una posterior caracterización de espectrometría de masas (MS) con un detector selectivo, y una identificación presuntiva en columnas Apolar DB-5MS (60 m) y Polar DB-WAX (60 m), utilizando la biblioteca NIST con el programa MassLab.

Aislamiento de patógenos y producción de inóculo

En la unidad de microbiología del CI Motilonia, los hongos fitopatógenos *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid., *Phytophthora capsici* Leonian y *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Sacc. se aislaron de raíces, hojas y frutos sintomáticos de frijol, berenjena y ají, respectivamente, en agar de papa y dextrosa (PDA, por sus siglas en inglés), a 25 °C.

Después, fueron suspendidos a una concentración de $1,0 \times 10^6$ ufc/ml en agua destilada estéril, identificados por claves taxonómicas según Gañán, Álvarez y Castaño (2015), y verificados mediante análisis moleculares realizados en los laboratorios de la Corporación para Investigaciones Biológicas (CIB) en Medellín, con extracción del ADN con el método de bromuro de hexadeciltrimetilamonio (CTAB). Luego se realizó la amplificación de la región espaciadora interna transcrita (ITS), con una técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) con *primers* universales y secuenciación.

Para el caso de *Colletotrichum* y *Macrophomina*, se utilizaron TS1 e ITS4, y para *Phytophthora* ITS4 e ITS6 (tabla 1). Las reacciones se incubaron a 95 °C durante cinco minutos; luego se realizaron 30 ciclos a 94 °C durante un minuto (desnaturalización), a 55 °C durante un minuto (alineamiento), y a 72 °C durante un minuto y medio (extensión); un ciclo de 72 °C durante cinco minutos (extensión final), y un último ciclo por tiempo indefinido a 8 °C.

Los productos de la PCR fueron enviados a Macrogen (Corea) para su secuenciación. Las secuencias *forward* y *reverse* fueron depuradas, editadas y alineadas mediante el *software* Geneious, versión 9.1.5. Las secuencias consenso se compararon

Tabla 1. Condiciones de la PCR para la identificación de fitopatógenos

Nombre	Primer	Secuencia	Tamaño esperado (pb)
<i>C. gloeosporioides</i>	ITS4	TCCTCCGCTTATTGATATGC	500-700
	ITS1	TCCGTAGGTGAACCTGCGG	
<i>M. phaseolina</i>	ITS4	TCCTCCGCTTATTGATATGC	500-700
	ITS1	TCCGTAGGTGAACCTGCGG	
<i>P. capsici</i>	ITS4	TCCTCCGCTTATTGATATGC	700-1.000
	ITS6	GAAGGTGAAGAAGTCGTAGTAACAAGG	

Fuente: Elaboración propia

con aquellas disponibles en la base de datos del Genbank con nucleótido BLAST, para determinar la identidad de los aislamientos.

Eficiencia y compatibilidad in vitro

Para evaluar el efecto biocida en los fitopatógenos *M. phaseolina*, *P. capsici* y *C. gloeosporioides*, se midió su crecimiento en PDA a concentraciones de entre 50 y 1.200 µg/ml en cada aceite esencial puro, según el microorganismo, respecto al PDA sin aceite, como control negativo (Barrera & Bautista, 2008).

Se sembraron rodajas de 1 cm de colonias del hongo de ocho días de cultivo. El crecimiento radial se midió por su diámetro a los siete días de incubación a 28 °C, por triplicado. Se expresó como porcentaje de inhibición del crecimiento micelial (ICM) con la fórmula de Broekaert et al. (1990, citado por Díaz et al., 2011): $ICM (\%) = [(dc - dt)/dc] \times 100$, donde *dc* es el diámetro de crecimiento del micelio en PDA sin aceite esencial, y *dt* es el mismo diámetro, con aceite. La concentración más baja se tomó como la mínima inhibitoria (CMI) del aceite, que produjo un 80 % de inhibición.

Se realizó el análisis de compatibilidad, según Melo et al. (2015), modificado por diferencias en el agroquímico utilizado. El aislado de cada fitopatógeno creció en un medio de PDA con

insecticida clorpirifós, herbicida glifosato, y los fungicidas carbendazim y tiabendazol, con dosis recomendadas de 5 ml/L, 13,9 ml/L, 0,8 ml/L y 0,9ml/L, respectivamente.

También se mezclaron los cuatro agroquímicos con el biocontrolador *Trichoderma* spp. (Trichol®), y se determinó el porcentaje de inhibición del crecimiento micelial de cada patógeno y de este biocontrolador, de manera similar a como se hizo con los tratamientos con aceites esenciales. De igual forma, se utilizó la CMI del aceite esencial con mayor inhibición del crecimiento micelial, y luego se evaluó su compatibilidad con los agroquímicos.

Siembra de cultivos y aplicación de tratamientos en campo

En el Centro de Investigación Motilonia, en Codazzi, Cesar, ubicado en las coordenadas 10°00'03,0" N, 73°14'53,3" O, y a 105 m s. n. m., se sembraron semillas del frijol biofortificado Corpoica 39 (*Phaseolus vulgaris*), ají (*Capsicum* spp.) y berenjena (*Solanum melongena*), variedades C029, con intervalos entre las plantas de 0,25, 0,50 y 0,80 m, respectivamente, y un metro entre surcos, en parcelas de 5 × 5 m.

El lote experimental se fertilizó de acuerdo con el balance entre los resultados del análisis de suelo y

los requerimientos específicos de cada cultivo: en frijol, 92 kg/ha de Agrimins, 100 kg/ha de fosfato diamónico, 750 cc/ha de Nutrifoliar, y 50 kg/ha de cloruro de potasio (KCl); en el cultivo de ají, se adicionaron dosis de urea (200 kg/ha), ácido fosfórico (150 kg/ha), KCl (400 kg/ha), nitrato de calcio (60 kg/ha), sulfato de magnesio ($MgSO_4$) (60 kg/ha) y Micronutrex (40 kg/ha), y en el de berenjena se utilizaron 135 kg/ha de urea, 310 kg/ha de fosfato diamónico y 565 kg/ha de KCl.

Las parcelas se distribuyeron en bloques completos al azar con cuatro réplicas, en arreglo factorial. Cada bloque estuvo constituido por el tratamiento de control de fitopatógenos, además del testigo sin control. Los tratamientos fueron los siguientes: T0: sin control de fitopatógenos; T1: aceite esencial de *L. alba*; T2: aceite esencial de *L. alba* + tiabendazol; T3: aceite esencial de *C. citratus*; T4: aceite esencial de *C. citratus* + tiabendazol, y T5: tiabendazol. La concentración de los aceites esenciales en todos los tratamientos fue de 1.200 µg/ml, y para el tiabendazol, la dosis recomendada: 0,9 ml/L.

La aplicación de todos los aceites esenciales se realizó por aspersión directa sobre el follaje y el suelo próximo a la raíz, y el tiabendazol se utilizó según la ficha técnica, a 45 días de la germinación y en la floración de cada cultivo. Luego de tres días de acción sobre el suelo, se muestreó para hacer análisis de variables de respuesta. Adicionalmente, se verificó la correspondencia entre la cepa evaluada *in vitro* y la que se controló en campo, mediante caracterizaciones macroscópica y microscópica, comparadas con claves taxonómicas y estudios moleculares.

Medición de criterios fisicoquímicos, biológicos y de rendimiento

Para las muestras de suelo en la resiembra, se recolectaron 500 g de cinco puntos de muestreo en los lotes, para obtener una muestra compuesta de cada unidad experimental, con una profundidad de 15 cm para el análisis microbiológico y de 30 cm para el fisicoquímico. Dada la variabilidad microespecífica del suelo, dichos puntos se marcaron para muestrear durante el cultivo, con el mismo método.

De cada muestra se realizó el recuento de bacterias, hongos y actinomicetos, en unidades formadoras de colonia por gramo de suelo, con la técnica de diluciones seriadas y vaciado en placa de Petri, de acuerdo con la metodología de Tofiño et al. (2012) y Gañán et al. (2015). Así mismo, se evaluaron los indicadores de calidad de suelo: pH, materia orgánica, capacidad de intercambio catiónico (CIC) y conductividad eléctrica (CE).

Mediante una balanza electrónica de precisión, se determinó la producción de frutos en cada parcela, expresada en t/ha y, a partir de tablas de escalas de daño, en 20 plantas por parcela se midió la incidencia de enfermedades y de plagas como el lorito verde (*Empoasca kraemeri* Ross & Moore [Hemiptera: Cicadellidae]), la mosca blanca (*Bemisia tabaci* [Gennadius] [Hemiptera: Aleyrodidae]), y el ácaro *Tetranychus urticae* C. L. Koch (Acari: Tetranychidae), en frijol, ají y berenjena.

Análisis estadístico

Se cuantificaron el promedio y la desviación estándar de las variables de crecimiento e inhibición de fitopatógenos, y luego se utilizó un modelo bivariado de regresión lineal para el aceite esencial y los fitopatógenos en estudio, considerando la dosis inhibitoria. Más adelante, se realizó un análisis de varianza, seguido de la prueba de Tukey, con un alfa igual a 0,05 entre tratamientos, en variables fisicoquímicas y microbiológicas de suelo, y el rendimiento de cultivo.

Las variables de reacción a plagas y enfermedades, expresadas en el porcentaje de plantas con mayor grado de severidad, y evaluadas visualmente, se analizaron a través de una evaluación no paramétrica de distribución de frecuencias por grados de reacción, seguida por una prueba de chi cuadrado (Lagarde, Medina, Ramis, & Maselli, 2010).

A estas variables se aplicó el análisis de componentes principales (ACP), para identificar el efecto de cada tratamiento en dichas propiedades, así como las más sensibles frente a la aplicación de fungicidas biológicos o químicos. Se utilizó el *software* SPSS, versión 20.

Resultados y discusión

Composición de aceites esenciales

En la muestra de aceites esenciales de *L. alba* se identificaron los compuestos mayoritarios neral (16,2%), geraniol (8,2%), geranial (20,7%), y β -cariofileno (9,0%), es decir, de quimiotipo citral (36,9%) (geranial + neral). De igual forma, en la muestra de aceite esencial de *C. citratus*, los compuestos mirceno (12,0%), neral (23,1%) y geranial (34,9%) fueron también del quimiotipo citral (58,0%).

Celis, Escobar, Isaza, Martínez y Stashenko (2007) reportan niveles superiores de dicho quimiotipo en aceites esenciales de *L. alba* extraídos mediante hidrodestilación asistida por la radiación de microondas, cuya mezcla de aldehídos alfa, beta-insaturados representa el 42%.

Del mismo modo, la concentración del aceite esencial de *C. citratus* se encuentra ligeramente por debajo del nivel referido en estudios realizados por Alzate et al. (2009), con un 65% del quimiotipo citral, extraído por arrastre con vapor de agua, de material vegetal cultivado en Guarne, departamento de Antioquia, Colombia.

Esta heterogeneidad es esperable, dado que la composición del aceite y su calidad están condicionados por factores ambientales, el manejo agronómico y los métodos de extracción (Astani, Reichling, & Schnitzler, 2010; Hennebelle, Sahpaz, Dermont, Joseph, & Bailleul, 2006). Se ha reportado el efecto biocida del quimiotipo citral en hongos de importancia agrícola, como *C. acutatum* (Alzate et al., 2009), *Aspergillus flavus* (Shukla, Kumar, Singh, & Dubey, 2009) y *C. gloeosporioides* (Anaruma et al., 2010).

Efecto in vitro de aceites esenciales de *L. alba* y *C. citratus* en fitopatógenos, y compatibilidad con fungicidas

Luego de siete días con 400 $\mu\text{g/ml}$ de los aceites esenciales, no hubo inhibición de *M. phaseolina*, mientras que con 800 $\mu\text{g/ml}$ de *C. citratus* se dio una inhibición del 92,9%, que supera el 80,0% requerido para la CMI ($r = 0,988$). Por consiguiente, se adoptó para llevar a cabo pruebas de compatibilidad con agroinsumos y un producto comercial de *Trichoderma* spp.

En cuanto a *C. gloeosporioides*, el ensayo con 1.000 $\mu\text{g/ml}$ del aceite esencial inhibió el 100% ($r = 0,994$),

Tabla 2. Concentración mínima inhibitoria de aceites esenciales de *C. citratus* y *L. alba*

Aceite esencial	$\mu\text{g/ml}$	<i>M. phaseolina</i> (porcentaje de inhibición)	$\mu\text{g/ml}$	<i>C. gloeosporioides</i> (porcentaje de inhibición)	$\mu\text{g/ml}$	<i>P. capsici</i> (porcentaje de inhibición)
<i>C. citratus</i>	400	0,0 \pm 0,0c	473,5	9,8 \pm 0,9c	67	32 \pm 1,0b
	800	92,9 \pm 1,3a	750,0	44,8 \pm 1,5b	81	45 \pm 1,0b
	1.200	97,5 \pm 0,7	1.000,0	100 \pm 0,0a	109	88 \pm 0,5a
<i>L. alba</i>	400	0,0 \pm 0,0c	600,0	50 \pm 0,6b	50	11 \pm 0,0c
	800	38,9 \pm 0,5b	750,0	50 \pm 0,5b	100	37 \pm 0,5b
	1.200	90,5 \pm 1,0	900,0	92,2 \pm 0,8	150	86 \pm 1,0a
Control	0	0,0 \pm 0,0c	0,0	0,0 \pm 0,0c	0	0,0 \pm 0,0c

Valores en una columna seguidos de la misma letra no difieren significativamente, de acuerdo con la prueba de Tukey ($p = 0,05$).
Fuente: Elaboración propia

equivalente a la CMI (tabla 2). Para *P. capsici*, la CMI se obtuvo con 109 µg/ml de *C. citratus* ($r=0,949$), frente a 150 µg/ml de *L. alba*. En consecuencia, en la siguiente etapa del estudio se utilizó aceite esencial de *C. citratus*, ya que en las estrategias sostenibles se busca la economía del agricultor, y una menor dosis disminuye los costos del tratamiento (Alzate et al., 2009; Villa et al., 2015).

No obstante, *L. alba* es una especie promisoría, debido a su capacidad para establecerse en zonas cálidas como el Caribe seco, con un rápido desarrollo y una mayor cantidad de biomasa y de volumen de aceites esenciales en relación con *C. citratus* (Rivera, Cardozo, & García, 2004).

Por lo tanto, se recomienda su evaluación con otros patógenos de interés regional, como *Fusarium* y *Pythium*. El efecto biocida de *C. citratus* en los tres hongos corrobora diversos estudios en los que se resalta el alto poder fungicida del componente citral, que inhibe la germinación y el desarrollo micelial (Alzate et al., 2009).

Los agroquímicos y sus mezclas tienen un efecto inhibitorio significativo ($p=0,00$) en el crecimiento de los fitopatógenos evaluados (tabla 3), a excepción del glifosato en *M. phaseolina* y *C. gloeosporioides*. Por su parte, carbendazim y tiabendazol presentaron un alto porcentaje de inhibición: de un 85,7% a un 88,1%.

Tabla 3. Prueba de compatibilidad entre agroquímicos *Trichoderma* spp. y aceites esenciales para el control de *M. phaseolina*, *C. gloeosporioides* y *P. capsici*

Tratamientos	Dosis	<i>M. phaseolina</i> (porcentaje de inhibición)	<i>C. gloeosporioides</i> (porcentaje de inhibición)	<i>P. capsici</i> (porcentaje de inhibición)
Control en PDA		0,0 ± 2,4a	0,0 ± 0,0a	0,0 ± 0,0a
Clorpirifós	5 ml/L	33,3 ± 7,1b	57,1 ± 2,4b	64,3 ± 2,4b
Glifosato	13,9 ml/L	0,0 ± 2,4a	0,0 ± 4,8a	85,7 ± 2,4d
Carbendazim	0,8 ml/L	88,1 ± 2,4c	88,1 ± 2,4c	88,1 ± 2,4d
Tiabendazol	0,9 ml/L	85,7 ± 4,8c	88,1 ± 2,4c	88,1 ± 2,4d
Mezcla de químicos	SA	92,9 ± 2,4cd	90,5 ± 2,4c	64,3 ± 4,8b
Trichol® (<i>Trichoderma viride</i>)	1 g/L	100,0 ± 0,0d	100,0 ± 0,0d	100,0 ± 0,0e
Mezcla de químicos + AE	SA + CMI	92,9 ± 0,0cd	92,9 ± 0,0d	85,7 ± 2,4d
Mezcla de químicos + Trichol®	SA + Tri	92,9 ± 2,4cd	90,5 ± 2,4cd	78,6 ± 4,8c
Trichol® + AE	Tri + CMI	90,5 ± 2,4cd	90,5 ± 0,0c	100,0 ± 0,0e
AE de <i>C. citratus</i>	CMI	92,9 ± 0,0cd	92,9 ± 0,0cd	88,1 ± 2,4d

SA: suma de concentraciones de agroquímicos; F: fungicida; AE: aceite esencial; CMI: concentración mínima inhibitoria; Tri: concentración de Trichol®. Las letras en la columna de inhibición hacen referencia a las diferentes significancias, de acuerdo con la prueba de Tukey ($p \leq 0,05$).

Fuente: Elaboración propia

También se observa que la mezcla de agroquímicos potencializa los fungicidas, con un 92,9% de inhibición, al igual que la de agroquímicos con el aceite esencial. En el caso de *P. capsici*, dicha combinación inhibió el 85,7%, en comparación con la mezcla sin aceite, que resultó en un 64,3%. Lo anterior sustenta el uso alternativo de los aceites esenciales para el control de los fitopatógenos *M. phaseolina*, *P. capsici* y *C. gloeosporioides*, y refleja su capacidad de integrarse con químicos fitosanitarios usados en sistemas hortícolas en el Caribe seco colombiano.

Por otra parte, aunque el tratamiento con Trichol® inhibió el patógeno, al igual que sus combinaciones con agroquímicos y aceites esenciales, es importante resaltar que los aceites esenciales inhibieron en un 100% el crecimiento, tanto del patógeno como el de *Trichoderma* spp.

Esto evidencia una incompatibilidad en el uso simultáneo del biocontrolador y los aceites esenciales, por lo cual no se continuó su ensayo en campo, dado que se requiere el desarrollo previo de un esquema de rotación de Trichol® y aceites esenciales, de acuerdo con la duración del efecto de los compuestos volátiles relacionados con su capacidad biocida.

En contraste, hubo compatibilidad entre Trichol®, clorpirifós y tiabendazol, pero incompatibilidad con carbendazim, que tampoco se utilizó para pruebas en campo. Se han registrado resultados similares en frijol cultivado en el Caribe seco (Melo et al., 2015), en el que el aceite esencial de *C. citratus* inhibió el patógeno *M. phaseolina*, así como otros aceites en concentraciones diferentes (Khaledi, Taheri, & Tarighi, 2015; Sánchez et al., 2008).

Respuesta del suelo y rendimiento de cultivos frente al control de los fitopatógenos en estudio

En términos generales, la respuesta de rendimiento agronómico de ají, frijol y berenjena a diferentes tratamientos de control de los fitopatógenos *M. phaseolina*, *P. capsici* y *C. gloeosporioides*, identificados mediante análisis molecular, fue significativamente favorable en relación con el testigo absoluto sin control ($p < 0,05$).

A su vez, en los tratamientos en los que se aplicaron aceites de *L. alba* y *C. citratus*, la actividad microbiológica del suelo presentó diferencias significativas entre los tratamientos y frente al testigo, así como un mayor valor en el contenido de materia orgánica y de conductividad eléctrica (tabla 4).

En los análisis de presiembra se observaron mejores condiciones microbiológicas, pero una menor calidad en las propiedades fisicoquímicas respecto a los datos obtenidos en los cultivos en los que se establecieron tratamientos con aceites esenciales. Es decir que, en general, se observa un leve efecto inhibitorio de la población de bacterias y hongos en los suelos de hortalizas que cuentan con un control de fitopatógenos, tanto con aceites esenciales como con tratamiento químico, siendo mayor la inhibición en este último ($p < 0,05$).

En todo caso, no se afectó la productividad de los cultivos, sino que se vio favorecida por el control de enfermedades (tabla 5). Lo anterior es relevante, dado que en la zona de estudio las prácticas fitosanitarias son deficientes y, en algunos casos, en cultivos pertenecientes a pequeños productores, no se realiza el control de fitopatógenos (Tofiño, Pastrana, Melo, Beebe, & Tofiño, 2016).

El pH del suelo en tratamiento en el que se cultivaron las hortalizas varió de fuerte a moderadamente ácido (4,4 y 6,0) —según la escala para suelos agrícolas descrita por Ibarra, Ruiz, González, Flores y Díaz (2009)—, similar a la condición en la presiembra, mientras que en el testigo sin aplicación se observa un nivel que va de moderado a neutro (6,3 a 6,8).

La tendencia acidificante podría asociarse, entre otros factores, a la naturaleza ácida del químico (pH 5,0) y de los aceites (pH 3,0) aplicados (Rodríguez, Castro, Sánchez, Gómez, & Correa, 2015), por lo que la adición de estos productos podría haber afectado el pH en el suelo, respecto al testigo. Esto, además, genera reacciones de los macroelementos, por la disminución del fósforo disponible y del potasio en todos los tratamientos (Balta et al., 2015) (tabla 4).

En cuanto a la materia orgánica en el suelo cultivado con frijol y berenjena, todos los tratamientos tienen diferencias significativas en relación con el testigo sin

Tabla 4. Respuesta de los suelos y los cultivos de hortalizas a los diferentes tratamientos para el control de *M. phaseolina*, *P. capsici* y *C. gloeosporioides*

Código	pH	Materia orgánica (%)	Fósforo (mg/kg)	Potasio (cmol/kg)	CIC (cmol/kg)	Conductividad eléctrica (dS/m)	Bacterias (ufc/g)	Hongos (ufc/g)	Rendimiento (t/ha)
Tx: previo a la siembra	5,3a	0,9a	203,1e	0,60d	6,8a	1,59c	1,6 × 10 ⁶ e	1,8 × 10 ⁴ c	-
T0: sin control	6,8e	0,8a	51,7d	0,30c	10,4c	0,48b	1,3 × 10 ⁵ d	7,0 × 10 ² a	0,43a
T1: <i>L. alba</i>	5,7bc	3,4d	1,4 ^a	0,20b	19,2g	0,17a	5,9 × 10 ⁴ b	2,7 × 10 ⁴ d	0,49b
T2: <i>L. alba</i> + tiabendazol	5,8bc	2,9c	1,9b	0,20b	12,6d	0,16a	7,2 × 10 ⁴ c	1,2 × 10 ³ a	0,65d
T3: <i>C. citratus</i>	5,7b	3,0c	1,5 ^a	0,20b	15,1f	0,16a	8,3 × 10 ⁴ c	3,7 × 10 ⁴ e	0,63c
T4: <i>C. citratus</i> + tiabendazol	6,0cd	2,9c	1,7ab	0,10a	13,4e	0,16a	2,6 × 10 ⁴ a	4,4 × 10 ³ b	0,77e
T5: tiabendazol	6,03d	2,1b	4,2c	0,30c	8,9b	0,15a	2,0 × 10 ⁴ a	2,2 × 10 ² a	0,85f
Tx: previo a la siembra	5,3b	0,9a	203,1f	0,60e	6,8a	1,59d	1,6 × 10 ⁶ d	1,8 × 10 ⁴ d	-
T0: sin control	6,6e	2,2ab	4,9d	0,70e	27,1e	0,19c	3,9 × 10 ⁵ c	6,8 × 10 ³ c	35,7a
T1: <i>L. alba</i>	5,2b	2,8d	5,1d	0,30c	10,9b	0,16b	8,4 × 10 ⁴ b	6,1 × 10 ⁴ f	44,0c
T2: <i>L. alba</i> + tiabendazol	5,9cd	2,4bc	11,8e	0,20b	12,0c	0,16b	8,5 × 10 ⁴ b	5,1 × 10 ⁴ e	45,8cd
T3: <i>C. citratus</i>	5,6c	2,1a	1,4 ^a	0,10a	11,8c	0,13a	8,0 × 10 ⁴ b	6,1 × 10 ³ c	40,1b
T4: <i>C. citratus</i> + tiabendazol	6,0d	2,0a	3,0c	0,50d	28,5f	0,16b	6,3 × 10 ⁴ a	4,1 × 10 ³ b	47,0d
T5: tiabendazol	4,4a	2,5cd	1,8b	0,10a	15,5d	0,15ab	6,5 × 10 ⁴ a	1,2 × 10 ³ a	47,6d

Frijol

Añ

Código	pH	Materia orgánica (%)	Fósforo (mg/kg)	Potasio (cmol/kg)	CIC (cmol/kg)	Conductividad eléctrica (dS/m)	Bacterias (ufc/g)	Hongos (ufc/g)	Rendimiento (t/ha)
Tx: previo a la siembra	5,3a	0,9a	203,1f	0,60f	6,8a	1,59e	$1,6 \times 10^6$ d	$1,8 \times 10^4$ d	-
T0: sin control	6,3d	1,9a	6,7d	0,12a	13,5b	0,51d	$5,0 \times 10^6$ e	$1,3 \times 10^4$ d	15,7a
T1: <i>L. alba</i>	6,0c	2,5b	8,5e	0,34e	17,4f	0,18a	$3,9 \times 10^5$ c	$6,0 \times 10^3$ c	17,6b
T2: <i>L. alba</i> + tiabendazol	5,8bc	3,3c	3,1c	0,32e	16,1e	0,23c	$2,0 \times 10^5$ ab	$4,4 \times 10^3$ b	18,0c
T3: <i>C. citratus</i>	5,6a	3,1c	1,0a	0,18c	8,2a	0,19a	$2,9 \times 10^5$ bc	$2,7 \times 10^3$ a	18,0c
T4: <i>C. citratus</i> + tiabendazol	5,7ab	3,3c	1,2 ^a	0,28d	15,1d	0,22bc	$3,2 \times 10^5$ c	$2,8 \times 10^3$ a	18,9d
T5: tiabendazol	5,9bc	2,1a	2,5b	0,15b	14,2c	0,20ab	$9,2 \times 10^5$ a	$2,1 \times 10^3$ a	19,1d

Berenjena

pH: potencial de hidrógeno, acidez; CIC: capacidad de intercambio catiónico. Valores (por cultivo) en una columna, seguidos de la misma letra, no difieren significativamente, de acuerdo con la prueba de Tukey (5%).
Fuente: Elaboración propia

Tabla 5. Evaluación de la frecuencia de plantas por tratamiento, en cada escala de enfermedades y plagas

Tratamientos	Reacción a enfermedades*			Incidencia de plagas**		
	Frijol	Ají	Berenjena	Frijol	Ají	Berenjena
T0: sin control	5,5	98,0	0,0	11,5	10,0	0,0
T1: <i>L. alba</i>	4,6	60,0	0,0	19,5	0,0	0,0
T2: <i>L. alba</i> + tiabendazol	4,7	59,0	0,0	4,3	0,0	0,0
T3: <i>C. citratus</i>	4,4	47,0	0,0	12,2	0,0	0,0
T4: <i>C. citratus</i> + tiabendazol	5,0	31,0	0,0	5,0	0,0	0,0
T5: tiabendazol	4,0	49,0	0,0	18,2	0,0	0,0
<i>p</i> > 0,05	0,22	0,00	-	0,36	-	-

* Porcentaje de prevalencia de enfermedades en nivel 5; ** Porcentaje de plantas con susceptibilidad al ataque de plagas; *p*: valor de la prueba de Chi cuadrado.

Fuente: Elaboración propia

control y las condiciones del suelo en la presiembra. El mayor valor se observó en tratamientos de aplicación individual de aceites esenciales T1 y T3.

En los cultivos de ají, los niveles de materia orgánica fueron similares en los tratamientos con *C. citratus* y el testigo, con valores adecuados para el desarrollo del cultivo en todos los tratamientos, aunque fueron superiores en las condiciones de presiembra. Dicho indicador ha sido reportado por Camacho, Luengas y Leiva (2010), por su sensibilidad a la intervención agrícola.

La respuesta de la CIC fue altamente sensible al manejo, con diferencias significativas entre tratamientos, incluyendo el testigo. Es probable que esto se deba a la naturaleza de las moléculas de los aceites esenciales y del fungicida químico, que causaron una CIC diferente, influenciada por la solubilidad, la temperatura y el pH en el suelo.

A pesar de la sensibilidad al manejo, la CIC fue favorable en los cultivos de hortalizas en estudio, y contribuyó a la asimilación de los nutrientes aportados en la fertilización, lo que se refleja en un

rendimiento acorde con lo que se ha reportado en la región (Camacho et al., 2010; Sacchi, Campitelli, Soria, & Ceppi, 2015).

Por su parte, la conductividad eléctrica no presentó diferencias estadísticas entre tratamientos, pero sí entre estos y el testigo, que fue superior en todos los suelos de los cultivos que fueron evaluados y clasificados como no salinos. Es decir que son iguales cualitativamente, por encontrarse dentro del mismo rango de salinidad, por lo que el desarrollo de las plantas no se ve afectado en ninguno de los tratamientos en lo que respecta a esta variable (Mogollón, Martínez, & Torres, 2015).

Se han registrado toxicidad y residualidad en los suelos que integran el sistema productivo hortícola del Caribe seco, a causa de agroquímicos como clorpirifós, glifosato, tiabendazol y carbendazim. En el caso de clorpirifós y glifosato, se reportan efectos negativos en la microbiota de bacterias y hongos cultivables del suelo, lo que constituye un hecho relevante, debido al efecto de la dinámica microbiana en la nutrición vegetal y la resistencia al ataque de patógenos (Sebiomo, Ogundero, & Bankole, 2011).

Algunos autores, como Yunlong, Xiaoqiang, Guohui, Yueqin y Hua (2009), Srinivasulu, Mohiddin, MadakkayRangaswamy(2012) y Tortella et al. (2013), reportan poca contaminación o daños asociados a fungicidas como carbendazim, cuando se aplica en dosis menores a las recomendadas comercialmente.

Por lo tanto, es necesario que estos y otros productos químicos utilizados en la zona de estudio se manejen en el marco de una estrategia de BPA, basada en el monitoreo y el control de focos de infección, así como en un uso controlado, para mitigar el efecto en el suelo correspondiente al área de influencia de las raíces (Melo et al., 2015).

Además, se observó que la población de bacterias había disminuido, y que se presentaban diferencias significativas frente al testigo sin aplicación y a las características del suelo previas a la siembra. La cuantificación de los hongos fue mayor en los tratamientos en los que solo se aplicaron aceites esenciales de *L. alba* o *C. citratus*, mientras que el tratamiento químico individual T5 presentó los valores más bajos.

En todos los casos, se observó que la población microbiana cultivable estaba por debajo de los valores reportados por Melo et al. (2015) para suelos tropicales, lo cual se asocia a suelos ácidos, pues ocurrió de manera más acentuada en los tratamientos que incluyeron control con fungicidas. Esto podría estar vinculado con la naturaleza biocida del químico, que puede generar un efecto letal indiscriminado tanto en microorganismos benéficos como en fitopatógenos (Carbonell et al., 2000; Melo et al., 2015).

Se evidenció una situación similar en los tratamientos con aceites esenciales, pero en una menor magnitud, dado que es inferior la residualidad de los componentes volátiles biocidas como el citral, que impide la germinación de las células fúngicas (Quintana, González, Plascencia, & Cortez, 2010).

Sin embargo, una vez que la vida media del citral se supera, la microbiota se restablece (Alzate et al., 2009; Jaurixje, Torres, Mendoza, Henríquez, & Contreras, 2013). En todo caso, se debe verificar la

magnitud del efecto de los aceites esenciales y los fungicidas en la microbiota del suelo, mediante técnicas de alta sensibilidad, como estudios de metagenómica (Dober et al., 2016).

En cuanto al rendimiento, fue mayor respecto al testigo en los cultivos con tratamientos, y también se observaron diferencias significativas entre ellos: en frijol, el químico T5 (tiabendazol) dio los mejores resultados, con una producción de 0,85 t/ha, seguido de T4 (aceite esencial *C. citratus* + tiabendazol), con 0,77 t/ha, que es cercana al promedio regional, de 0,8 t/ha. Se observó un efecto similar en la berenjena, donde con el T5 (tiabendazol) se alcanzaron 19,1 t/ha, un rendimiento superior al promedio regional, de 18 t/ha (CCI, 2015).

Respecto al comportamiento fitosanitario (tabla 5), solo se apreciaron diferencias significativas en la reacción a las enfermedades, pues el ataque fue mayor en el testigo en todos los cultivos, y con una alta incidencia en el ají, con un 98 % de frutos con daño por manchas, pero sin que se afectara el rendimiento, ya que se superó el promedio regional, de 6,6 t/ha. En estudios posteriores deberá evaluarse el efecto de los tratamientos en la durabilidad en el anaquel (CCI, 2015; Guigón & González, 2001; Silva et al., 2014).

En cuanto a la respuesta en la presencia de plagas, se observó una incidencia de entre el 4,3 % y el 19 %. En todos los tratamientos del cultivo de frijol se presentó un 5 % de lorito verde, mientras en el tratamiento control del cultivo de berenjena se dio un nivel del 10 % de mosca blanca.

Análisis de componentes principales de variables rizosféricas y de rendimiento, en el control de hongos de cultivos de ají, frijol y berenjena

En términos generales, los resultados del análisis de componentes principales (ACP) —que explicaron en promedio el 98,7 % de la varianza entre variables fisicoquímicas, microbiológicas y de rendimiento en respuesta al control de los fitopatógenos *M. phaseolina*, *P. capsici* y *C. gloeosporioides*— indican diferentes respuestas edafológicas y agronómicas, según el tipo de tratamiento utilizado, en relación con el testigo sin control.

Lo anterior se asocia con una mayor incidencia de plagas y enfermedades, pero una menor alteración de los indicadores fisicoquímicos y microbiológicos en el suelo. Además, también existen diferencias ($p < 0,05$) entre el uso del aceite esencial por sí solo y el combinado con el fungicida químico.

Por consiguiente, en las condiciones del presente estudio, tanto los tratamientos exclusivos con aceites esenciales como aquellos con productos químicos ocasionaron impactos negativos en el suelo, pero, al mezclarse, estos efectos se redujeron ($p=0,00$) o promovieron el comportamiento de algunas variables edafológicas beneficiosas para el cultivo.

Es el caso de las bacterias cultivables del suelo del fríjol, el grado de acidez en el suelo del ají y la materia orgánica en la berenjena, cuyos valores son superiores cuando se realizan tratamientos combinados, como T2 (aceite esencial de *L. alba* + tiabendazol) y T4 (aceite esencial *C. citratus*+ tiabendazol), frente a aquellos que emplean los aceites esenciales o los químicos individualmente (tabla 4).

Esta condición responde a diferentes factores. Los pesticidas sintéticos están basados en un único producto, en contraste con los aceites esenciales, que son una mezcla compleja de componentes, y que incluyen constituyentes menores que actúan sinérgicamente dentro de la planta, como una estrategia de defensa (Batish, Singh, Kumar, & Kaur, 2008).

Sin embargo, su naturaleza volátil requiere una compensación con agentes estabilizantes. Se ha documentado que los benzimidazoles cumplen una función antioxidante en bases oleicas de origen vegetal e hidrocarburos (Basta et al., 2016; Komatsu, Souza, Carvalho, de Campos, & Totten, 2010), por lo cual es importante que se lleve a cabo una valoración posterior de este efecto del tiabendazol en los aceites utilizados.

En este ensayo, las bacterias y hongos bajo tratamiento químico disminuyeron en más del 80 % respecto al testigo sin control de fitopatógenos, mientras que con un manejo combinado se alcanzó un máximo del 50 %. Esto sugiere que existe una posibilidad de que se incluya en las BPA, dado el

nivel de toxicidad del tiabendazol (Organización Mundial de la Salud [OMS], 2010) y la necesidad de evaluar dosis inferiores a las recomendadas convencionalmente, en combinación con los aceites esenciales, con el fin de disminuir la intensidad del uso, ya que la microbiota del suelo se restablece más rápido en ambientes naturales que con un manejo exclusivamente químico (Gaviria et al., 2013).

Yunlong et al. (2009) registraron tendencias similares, y aludieron a una recuperación de la microbiota 21 días después del uso de químicos, respecto al control sin aplicación. En tanto, estudios con fungicidas evidencian una recuperación luego de 90 días de la aplicación, mientras que con extractos naturales se da a los 10 días (Monkiedje, Olusoji, & Spiteller, 2002; Zhao et al., 2016). También se registró que la naturaleza química u orgánica del fertilizante utilizado incide en el pH y en la composición bacteriana (Ling et al., 2014).

Específicamente en el caso del fríjol, los dos componentes explicaron el 96,5 % de la varianza del ensayo (figura 1). El primero, con el 73,2 %,

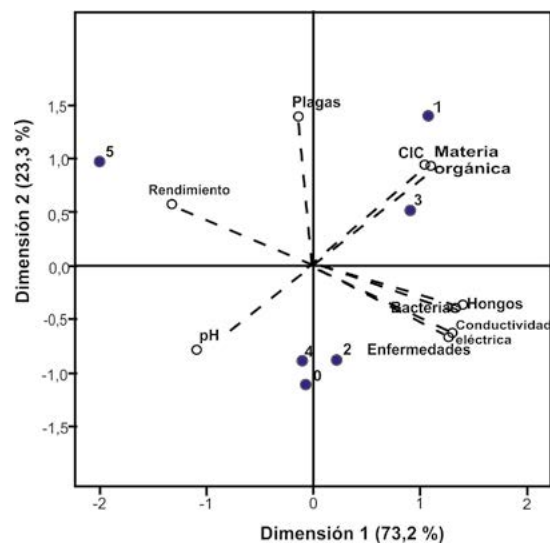


Figura 1. Diagrama bi espacial de dispersiones de variables fisicoquímicas, microbiológicas y de rendimiento del cultivo de fríjol, con diversos manejos de fitopatógenos. Los números indican el tratamiento utilizado: 0: sin control; 1: *L. alba*; 2: *L. alba* + tiabendazol; 3: *C. citratus*; 4: *C. citratus* + tiabendazol; T5: tiabendazol.

Fuente: Elaboración propia

contribuye en mayor medida a las variables pH, materia orgánica y recuento de bacterias. Por su parte, el segundo, con un 23,3 %, está asociado con la CIC y la incidencia de la plaga evaluada, el lorito verde (*E. kraemeri*).

Lo anterior se debe a que la materia orgánica, el pH y la población microbiana del suelo son sensibles a la siembra de fríjol, dada su actividad en la fijación simbiótica del nitrógeno, que a su vez está influenciada por el manejo agronómico del cultivo (Ángeles & Cruz, 2015; Esquivel, Lamadrid, Díaz, Torres, & Pérez, 2014).

Se han observado diferencias entre los tratamientos que consisten exclusivamente en aceites esenciales y aquellos en los que se combinan con químicos. Sin embargo, todos se diferenciaron del testigo, en el que se conservan varias propiedades favorables para el cultivo, pero también se da una mayor incidencia de enfermedades.

El primer grupo, de solo aceites esenciales, favoreció la CIC y el desarrollo adecuado de grupos de hongos en el suelo, pero también presentó una mayor incidencia de plagas, de lo cual se puede deducir que la combinación con un fungicida químico favorece especialmente el rendimiento del cultivo. Esto estaría influenciado por el efecto fitoprotector de los aceites esenciales y sus componentes (Batish et al., 2008), que actúan en sinergia con la alta actividad fungicida del tiabendazol.

Aunque este fungicida controló de forma más efectiva la presión de fitopatógenos en el cultivo, es necesario desarrollar estudios posteriores sobre la sostenibilidad en el tiempo de dicho efecto fitoprotector, dada la naturaleza volátil de los aceites y su alta biodegradabilidad (Batish et al., 2008; Vera, Olivero, Jaramillo, & Stashenko, 2010).

Estos resultados son consistentes con lo que se ha referido en el caso de la soya, respecto a la evaluación del fungicida Vitavax en asocio con *Rhizobium*, que afectaron la dinámica microbiana en el suelo y la nodulación, así como la reacción a enfermedades y el rendimiento del cultivo (Vozniuk, Tytova, Lyaska, & Lutynska, 2015).

En cuanto al ACP del ají, los dos componentes explicaron el 99,8 % de la varianza del ensayo. El primero, con el 64,6 % de la varianza, contribuyó en mayor medida en las variables pH, conductividad eléctrica y recuento de bacterias por gramo de suelo. Por su parte, el segundo, con un 35,2 %, se asoció con la CIC, la materia orgánica y el recuento de hongos por gramo de suelo, algo similar a lo sucedido en el cultivo de fríjol, lo cual indica la alta sensibilidad de las variables químicas y microbiológicas a los tratamientos en los suelos de la zona en estudio.

Se observó un comportamiento diferente entre el testigo, los demás tratamientos, y el que consistió solo en aceite esencial de *L. alba* (T1), que se relacionó favorablemente con el contenido de materia orgánica y el desarrollo adecuado de hongos del suelo (figura 2). Estos resultados son consistentes con los registrados con la aplicación de mfenoxam y metalaxyl en suelos franco-arenosos, donde los índices de actividad microbiana, como densidad de población microbiana y sistemas microbianos específicos, fueron los indicadores más sensibles en el cambio (Monkiedje, Ilori, & Spiteller, 2002).

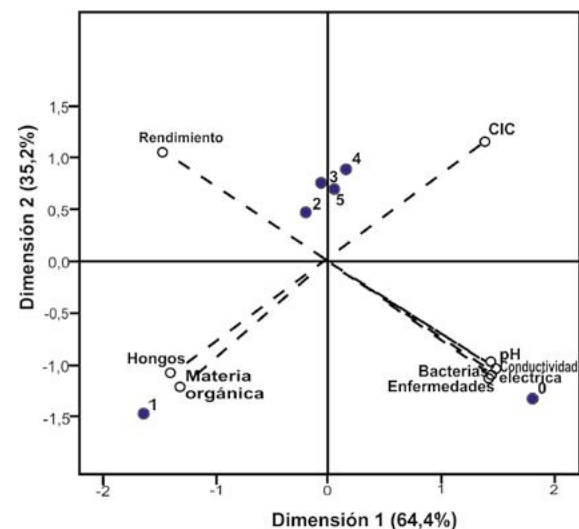


Figura 2. Diagrama de dispersión de variables fisicoquímicas, microbiológicas y de rendimiento del cultivo de ají, con diversos manejos de fitopatógenos. Los números indican el tratamiento utilizado: 0: sin control; 1: *L. alba*; 2: *L. alba* + tiabendazol; 3: *C. citratus*; 4: *C. citratus* + tiabendazol; T5: tiabendazol.

Fuente: Elaboración propia

En concordancia con lo registrado con el frijol, el testigo sin control conserva varias propiedades favorables para el cultivo, pero también una mayor prevalencia de enfermedades y un menor rendimiento, que fue mayor con T4 y T5.

De igual forma, Carvalho et al. (2008, citados por Stangarlin et al., 2011) realizaron un ensayo *in vivo* con extractos de plantas de *C. citratus* y *Cymbopogon martini* para el control de *C. gloesporioides* en ají, en el cual no se observó una diferencia significativa en el control de la enfermedad en relación con el testigo, aunque, a una concentración del 10%, se presentó una menor reducción del peso de los frutos con *C. martini*.

El ACP de la berenjena explicó el 99,9% de la varianza del ensayo (figura 3). El primer componente, con el 83,7%, se asoció con el pH, el recuento de bacterias y el rendimiento del cultivo (en una relación negativa), lo cual podría explicarse por las condiciones de acidez del suelo favorables para el desarrollo de bacterias con baja influencia en los ciclos biogeoquímicos o en el rendimiento del cultivo de berenjena (Sapundjieva, Kostadinov, Kartalska, Shilev, & Naidenov, 2009).

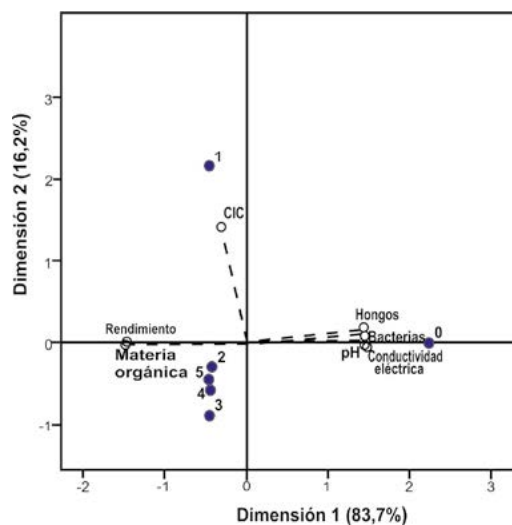


Figura 3. Diagrama biplot de dispersión de variables fisicoquímicas, microbiológicas y de rendimiento del cultivo de berenjena, con diversos manejos de fitopatógenos. Los números indican el tratamiento utilizado: 0: sin control; 1: *L. alba*; 2: *L. alba* + tiabendazol; 3: *C. citratus*; 4: *C. citratus* + tiabendazol; T5: tiabendazol.

Fuente: Elaboración propia

A su vez, el segundo componente, con el 16,2% de la varianza, incluyó la CIC. Se observaron diferencias entre los tratamientos que contenían aceite esencial de *L. alba*, el testigo y los demás tratamientos. El testigo, al igual que en los casos del frijol y el ají, conservó varias propiedades edáficas favorables para el cultivo, pero también una mayor prevalencia de enfermedades.

El T1 (*L. alba*) se relacionó favorablemente con la CIC, y el T2 (*L. alba* + tiabendazol) con el contenido de materia orgánica y el rendimiento. Lo anterior podría estar asociado, además de su actividad fungicida, al efecto protector en raíces de hortalizas que fue reportado por Vera et al. (2010) en cebolla (*Allium cepa* L.), y que se demuestra con la disminución de aberraciones cromosómicas, así como con el aumento de la longitud y el peso de las raíces expuestas a mercurocromo a 10 y 500 μm , más el aceite esencial de *L. alba* a 100 μm , con diferencias significativas en relación con el químico aplicado individualmente.

En combinación con los químicos, estos tratamientos alcanzaron un rendimiento similar a los promedios regionales, y mejores condiciones fisicoquímicas y microbiológicas. El realizado exclusivamente con fungicida resultó ser más agresivo para la microbiota del suelo y promovió su acidez, aunque obtuvo resultados superiores tanto en control de enfermedades como en el rendimiento de los cultivos.

En términos generales, en frijol y ají, los componentes principales asociados a la varianza entre tratamientos consistieron en la reacción del pH, el nivel de materia orgánica y la población microbiana (bacterias u hongos).

Por su parte, en el caso de la berenjena, la materia orgánica del suelo fue similar entre los tratamientos, a excepción del testigo sin control. Lo anterior sugiere que el efecto del manejo agronómico en los ciclos biogeoquímicos edáficos influye en mayor o menor medida en el rendimiento según la especie hortícola.

Por consiguiente, se debe avanzar en la estandarización del uso conjunto de fungicidas químicos y aceites esenciales, mediante la medición de su impacto en las

propiedades asociadas a la salud y la calidad del suelo agrícola, así como su conservación en el largo plazo.

Además de las variables evaluadas en este estudio, se deben incluir otros criterios biológicos de especial importancia, como la estabilidad de microagregados, la relación entre anélidos y hormigas, el estudio de mesofauna y macrofauna, entre otras variables sensibles para el manejo del cultivo (Altieri & Nicholls, 2001; Tofiño, Velásquez, & Zapata, 2016).

Conclusiones

En general, los aceites esenciales controlaron efectivamente los fitopatógenos *M. phaseolina*, *P. capsici* y *C. gloeosporioides*, con un 100 % de inhibición *in vitro* y un 67 % de eficiencia en campo. Los resultados sugieren que los tratamientos que consisten en la combinación de aceite esencial y fungicida (T2 y T4) presentaron mejores rendimientos en todos los cultivos de hortalizas, en relación con el testigo sin control de fitopatógenos.

Aparentemente, para las hortalizas evaluadas, esta tendencia tiene un menor impacto en el suelo en lo que se refiere a indicadores de pH, actividad microbiológica de bacterias, hongos rizosféricos y disponibilidad de nutrientes, respecto a los tratamientos con aceites esenciales o fungicidas químicos, en los que se observa una influencia en la dinámica de los nutrientes, que deberá verificarse en trabajos posteriores, de acuerdo con las necesidades diferenciales de cada cultivo.

En consecuencia, se recomienda verificar el control en campo de subdosis de fungicidas asociadas con las concentraciones de aceites esenciales validadas *in vitro* en los patógenos evaluados el presente estudio. Además, se sugiere avanzar en pruebas más específicas, como medición de impacto en todas las propiedades asociadas a la salud del suelo, y esquemas de degradación y eliminación natural del aceite esencial, de manera individual y combinado con fungicidas químicos.

De igual forma, los resultados alcanzados pueden refinarse, a partir de estudios con estrategias metagenómicas, con el objetivo de definir los efectos

de los tratamientos en las funciones generales del suelo agrícola.

Por otro lado, el uso de aceites esenciales de *L. alba* y *C. citratus*, acompañados de bioinsumos a base de *Trichoderma* spp., deberá analizarse en campo, en un esquema de rotación con fungicidas o aceites esenciales, individualmente y en conjunto, dada la incompatibilidad que en el presente estudio se evidenció en su combinación *in vitro*.

Para la bioprospección de plantas aromáticas y el fortalecimiento regional de la agrocadena, resulta de vital importancia el diseño de estrategias agroproductivas de especies como *L. alba* y *C. citratus*, que optimicen la productividad de aceites esenciales con mayor calidad fitoquímica en el Caribe seco.

Finalmente, se requieren estudios de la fitotoxicidad y citotoxicidad de los aceites esenciales aplicados como solución acuosa foliar, con el fin de avanzar en formulaciones como producto fungicida dentro del marco de estrategias de BPA de producción hortícola.

Agradecimientos

Los autores agradecen la asesoría y la colaboración para la realización de la fase experimental al Centro de Investigación Motilonia de la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (Corpoica), a la Universidad Popular del Cesar y a la Universidad de Santander (UNDES).

Descargos de responsabilidad

Este estudio fue financiado con recursos propios de la Universidad Popular del Cesar y de la agenda interna de Corpoica. Los resultados hacen parte de la tesis de maestría de Eduardo Mena-Rodríguez en Ciencias Ambientales, del programa Sistema Universitario Estatal del Caribe Colombiano (SUE Caribe), derivado de los siguientes proyectos: “Desarrollo de microeconomías regionales en la producción de aceites esenciales de especies aromáticas cosechadas en suelos mineros”, N.º 16598 de 2016 del Fondo Regional de Tecnología Agropecuaria (Fontagro); “Restauración de suelos degradados por la minería empleando estrategias de rizorremediación basadas en el uso de especies

aromáticas nativas que promuevan el desarrollo de las microeconomías regionales”, del Departamento Administrativo de Ciencia, Tecnología e Innovación

(Colciencias), así como de la convocatoria 2014 de movilidad internacional, capítulo Argentina. Los autores manifiestan no tener conflictos de intereses.

Referencias

- Altieri, M. A., & Nicholls, C. I. (2001). *Sistema agroecológico rápido de evaluación de calidad de suelo y salud de cultivos en el agroecosistema de café*. Recuperado de https://xa.yimg.com/kq/groups/21380096/1259522799/name/UNKNOWN_PARAMETER_VALUE.
- Alzate, D., Mier, G., Afanador, L., Durango, D., & García, C. (2009). Evaluación de la fitotoxicidad y la actividad antifúngica contra *Colletotrichum acutatum* de los aceites esenciales de tomillo (*Thymus vulgaris*), limoncillo (*Cymbopogon citratus*), y sus componentes mayoritarios. *Vitae*, 16(1), 116-125.
- Anaruma, N., Schmidt, F., Duarte, M., Figueira, G., Delarmelina, C., Benato, E., & Sartoratto, A. (2010). Control of *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Sacc. in yellow passion fruit using *Cymbopogon citratus* essential oil. *Brazilian Journal of Microbiology*, 41(1), 66-73.
- Ángeles, J., & Cruz, T. (2015). Isolation, molecular characterization and evaluation of nitrogen-fixing strains in promoting the growth of beans. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 6(5), 929-942.
- Astani, A., Reichling, J., & Schnitzler, P. (2010). Comparative study on the antiviral activity of selected monoterpenes derived from essential oils. *Phytotherapy Research*, 24(5), 673-679. doi: 10.1002/ptr.2955.
- Balta, R., Rodríguez, A., Guerrero, R., Cachique, D., Alva, E., Arévalo, L., & Loli, O. (2015). Absorción y concentración de nitrógeno, fósforo y potasio en sachá inchi (*Plukenetia volubilis* L.) en suelos ácidos, San Martín, Perú. *Folia Amazónica*, 24(2), 23-30.
- Barrera, L., & Bautista, S. (2008). Actividad antifúngica de polvos, extractos y fracciones de *Cestrum nocturnum* L. sobre el crecimiento micelial de *Rhizopus stolonifer* (Ehrenb.: Fr.) Vuill. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 26(1), 27-31.
- Basta, J., El-Bassoussi, A., Salem, A., Nessim, M., Ahmed, M., & Attia, S. (2016) Preparation and evaluation of some benzimidazole derivatives as antioxidants for local base oil. *Egyptian Journal of Petroleum*, 26(2), 225-564.
- Batish, D., Singh, H., Kohli, R., & Kaur, S. (2008). Eucalyptus essential oil as a natural pesticide. *Forest Ecology and Management*, 256(12), 2166-2174. doi:10.1016/j.foreco.2008.08.008.
- Camacho, J., Luengas, C., & Leiva, F. (2010). Análisis multivariado de propiedades químicas en oxisoles con diferentes niveles de intervención agrícola. *Acta Agronómica*, 59(3), 273-284.
- Carbonell, G., Pablos, M., García, P., Ramos, C., Sánchez, P., Fernández, C., & Tarazona J. (2000). Rapid and cost-effective multiparameter toxicity tests for soil microorganisms. *Science of the Total Environment*, 247(2-3), 143-150. doi:10.1016/S0048-9697(99)00486-6.
- Celis, C., Escobar, P., Isaza, J., Martínez, J., & Stashenko, E. (2007). Estudio comparativo de la composición y actividad biológica de los aceites esenciales extraídos de *Lippia alba*, *Lippia origanoides* y *Phyla dulcis*, especies de la familia Verbenaceae. *Scientia et Technica*, 1(33), 103-105. doi:10.22517/23447214.6131.
- Corporación Colombia Internacional (CCI). (2015). *Plan Hortícola Nacional (PHN)*. Recuperado de http://www.asohofrucol.com.co/archivos/biblioteca/biblioteca_28_PHN.pdf.
- Criollo, H., Lagos, T., Piarpuezan, E., & Pérez, R. (2011). The effect of three liquid bio-fertilizers in the production of lettuce (*Lactuca sativa* L.) and cabbage (*Brassica oleracea* L. var. capitata). *Agronomía Colombiana*, 29(3), 415-421.
- Departamento Administrativo Nacional de Estadística (DANE). (2016). *Encuesta Nacional Agropecuaria (ENA) 2015*. Recuperado de <http://www.dane.gov.co/index.php/estadisticas-por-tema/agropecuario/encuesta-nacional-agropecuaria-ena/encuesta-nacional-agropecuaria-por-departamentos>.
- Díaz, P., Cabrera, A., Alem, D., Larrañaga, P., Ferreira, F., & Dalla, M. (2011). Antifungal activity of medicinal plant extracts against phytopathogenic fungus *Alternaria* spp. *Chilean Journal of Agricultural Research*, 71(2), 231-239. doi:10.4067/S0718-58392011000200008.
- Dober, M., Deltedesco, E., Jöchlinger, L., Schneider, M., Gorfer, M., Bruckner, A., ... & Keiblinger, K. (abril, 2016). Soil microbial toxicity assessment of a copper-based fungicide in two contrasting soils. Trabajo presentado en la EGU General Assembly, Viena, Austria. Recuperado de <http://meetingorganizer.copernicus.org/EGU2016/EGU2016-3971.pdf>.

- Esquivel, A., Lamadrid, L., Díaz, B., Torres, R., & Pérez, E. (2014). Efecto de la fertilización mineral y biológica sobre tres genotipos de frijol común en un suelo ferralítico rojo típico. *Centro Agrícola*, 41(1), 19-23.
- Gañán, L., Álvarez, E., & Castaño, J. (2015). Identificación genética de aislamientos de *Colletotrichum* spp. causantes de antracnosis en frutos de aguacate, banano, mango y tomate de árbol. *Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales*, 39(152), 339-347. doi:10.18257/raccefyfyn.192.
- Gaviria-Hernández, V., Patiño-Hoyos, L., & Saldarriaga-Cardona, A. (2013). Evaluación *in vitro* de fungicidas comerciales para el control de *Colletotrichum* spp. en mora de Castilla. *Corpoica Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, 14(1), 67-75.
- Guigón, C., & González P. (2001). Estudio regional de las enfermedades del chile (*Capsicum annum* L.) y su comportamiento temporal en el sur de Chihuahua, México. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 19(1), 49-56.
- Hennebelle, T., Sahpaz, S., Dermont, C., Joseph, H., & Bailleul, F. (2006). The essential oil of *Lippia alba*: analysis of samples from French overseas departments and review of previous works. *Chemistry & Biodiversity*, 3(10), 1116-1125. doi: 10.1002/cbdv.200690113.
- Ibarra, D., Ruiz, J., González, D., Flores, J., & Díaz, G. (2009). Distribución espacial del pH de los suelos agrícolas de Zapopan, Jalisco, México. *Agricultura Técnica en México*, 35(3), 267-276.
- Jaurixje, M., Torres, D., Mendoza, B., Henríquez, M., & Contreras, J. (2013). Propiedades físicas y químicas del suelo y su relación con la actividad biológica bajo diferentes manejos en la zona de Quíbor, estado Lara. *Bioagro*, 25(1), 47-56.
- Khaledi, N., Taheri, P., & Tarighi, S. (2015). Antifungal activity of various essential oils against *Rhizoctonia solani* and *Macrophomina phaseolina* as major bean pathogens. *Journal of Applied Microbiology*, 118(3), 704-717. doi:10.1111/jam.12730.
- Komatsu, D., Souza, C., Carvalho, E., de Campos, L., & Totten, G. (2010). Effect of antioxidants and corrosion inhibitor additives on the quenching performance of soybean oil. *Journal of Mechanical Engineering*, 56(2), 121-130.
- Lagarde, P., Medina, A., Ramis, C., & Maselli, A. (2010). Evaluación de la resistencia a la bacteriosis común causada por *Xanthomonas phaseoli* en plantas F3 de caraota (*Phaseolus vulgaris*). *Fitopatología Venezolana*, 23(2), 35-39.
- Landero, N., Nieto, D., Téliz, D., Alatorre, R., Ortiz, C., & Orozco, M. (2015). Biological control of anthracnose by postharvest application of *Trichoderma* spp. on maradol papaya fruit. *Biological Control*, 91, 88-93. doi:10.1016/j.biocontrol.2015.08.002.
- Lau, C., Jarvis, A., & Ramírez, J. (2013). *Agricultura colombiana: adaptación al cambio climático* (CIAT Políticas en Síntesis N.º 1). Cali, Colombia: Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT).
- Ling, N., Sun, Y., Ma, J., Guo, J., Zhu, P., Peng, C., ... & Shen, Q. (2014). Response of the bacterial diversity and soil enzyme activity in particle-size fractions of mollisol after different fertilization in a long-term experiment. *Biology and Fertility of Soils*, 50(6), 901-911. doi:10.1007/s00374-014-0911-1.
- Melo, A., Ariza, P., Lissbrant, S., & Tofiño, A. (2015). Evaluación de agroquímicos-bioinsumos para el manejo sostenible del frijol en la costa Caribe colombiana. *Agronomía Colombiana*, 33(2), 203-211.
- Mogollón, J., Martínez, A., & Torres, D. (2015). Efecto de la aplicación de un vermicompost en las propiedades químicas de un suelo salino-sódico del semiárido venezolano. *Acta Agronómica*, 64(4), 315-320. doi:10.15446/acag.v64n4.47115.
- Monkiedje, A., Ilori, M., & Spiteller, M. (2002). Soil quality changes resulting from the application of the fungicides mefenoxam and metalaxyl to a sandy loam soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 34(12), 1939-1948. doi:10.1016/S0038-0717(02)00211-0.
- Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO). (2014). *Producción mundial de hortalizas 2013*. Recuperado de www.faostat.org.
- Organización Mundial de la Salud (OMS). (2010). *The WHO recommended classification of pesticides by hazard and guidelines to classification: 2009*. Ginebra, Suiza: OMS. Recuperado de http://www.who.int/ipcs/publications/pesticides_hazard_2009.pdf.
- Quintana, E., González, G., Plascencia, M., & Cortez, M. (2010). Inhibición del crecimiento de *Penicillium chrysogenum* por presencia de aceites de *Cinnamomum zeylanicum*, *Allium cepa* y *Cymbopogon citratus*. *Revista Mexicana de Micología*, 32, 59-62.
- Quipo, F., Rojas, J., Ramírez, A., & Ordóñez, L. (2013). Cambios en la vitamina C y el color durante la cocción del pimentón verde (*Capsicum annum* L.). *Tecnológicas*, 31, 141-150.
- Rivera, S., Cardozo, R., & García, V. (2004). Desarrollo agrotecnológico de *Lippia alba* (Miller) N. E. Brown ex Britton & Wilson. *Revista Científica Guillermo de Ockham*, 7(1), 201-215.
- Rodríguez, W., Castro, L., Sánchez, Y., Gómez, J., & Correa, M. (2015). Composición química del aceite esencial de las hojas de *Cymbopogon nardus* y *Cymbopogon citratus*. *Momentos de Ciencia*, 3(1), 44-50.
- Sacchi, G., Campitelli, P., Soria, P., & Ceppi, S. (2015). Influencia de temperaturas de calentamiento sobre propiedades físicas y químicas de suelos con distinto material parental y uso antrópico. *Spanish Journal of Soil Science*, 5(3), 214-226. doi:10.3232/SJSS.2015.V5.N3.03.
- Sánchez, G., Cruz, M., Esther, L., Leiva, M., Cruz, M., Alvarado, C., ... & Pérez, M. (2008). Actividad antifúngica del aceite esencial de *Cymbopogon nardus* para el control de *Macrophomina phaseolina*. *Centro Agrícola*, 35(3), 83-86.

- Sapundjieva, K., Kostadinov, K., Kartalska, Y., Shilev, S., & Naidenov, M. (2009). Influence of Mineral Fertilization on the Soil Microbiocenosis in the Rhizosphere of Eggplant. *Plant Science*, 46(2), 182-185.
- Sebiomo, A., Ogundero, V., & Bankole, S. (2011). Effect of four herbicides on microbial population, soil organic matter and dehydrogenase activity. *African Journal of Biotechnology*, 10(5), 770-778.
- Silva, S., Rodrigues, R., Gonçalves, L., Sudré, C., Bento, C., Carmo, M., & Medeiros A. (2014). Resistance in *Capsicum* spp. to anthracnose affected by different stages of fruit development during pre- and post-harvest. *Tropical Plant Pathology*, 39(4), 335-341. doi:10.1016/j.scienta.2014.10.033.
- Shukla, R., Kumar, A., Singh, P., & Dubey, N. (2009). Efficacy of *Lippia alba* (Mill.) N. E. Brown essential oil and its monoterpene aldehyde constituents against fungi isolated from some edible legume seeds and aflatoxin B1 production. *International Journal of Food Microbiology*, 135(2), 165-70. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2009.08.002.
- Srinivasulu, M., Mohiddin, G., Madakka, M., & Rangaswamy, V. (2012). Effect of pesticides on the population of *Azospirillum* sp. and on ammonification rate in two soils planted to groundnut (*Arachis hypogaea* L.). *Tropical Ecology*, 53(1), 93-104.
- Stangarlin, J., Kuhn, O., Assi, L. & Schwan, K. (2011). Control of plant diseases using extracts from medicinal plants and fungi. En A. Méndez-Vilas (Ed.). *Science against microbial pathogens: communicating current research and technological advances*. Recuperado de <http://formatex.info/microbiology3/book/1033-1042.pdf>.
- Tofiño, A., Cabal, D., & Gil, L. (2012). Análisis de componentes del sistema productivo de aguacate, con incidencia probable de *Phytophthora* en Cesar, Colombia. *Avances en Investigación Agropecuaria*, 16(2), 63-90.
- Tofiño, A., Chinchilla, K., & Ortega, M. (2016). Evaluación *in vitro* de compatibilidad de agroquímicos, bioinsumos y aceite esencial sobre el control de *Colletotrichum gloeosporioides* aislado de ají. *Vitae*, 23(Supl. 1), 478-482.
- Tofiño, A., Pastrana, I., Melo, A., Beebe, S., & Tofiño, R. (2016). Rendimiento, estabilidad fenotípica y contenido de micronutrientes de genotipos de frijol biofortificado en el Caribe seco colombiano. *Corpoica Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, 17(3), 309-329. doi:10.21930/rcta.vol17_num3_art:511.
- Tofiño, A., Velásquez, A., & Zapata, M. (2016). *Indicadores edafológicos del cultivo de frijol en el Caribe seco colombiano: una estrategia in situ*. Mosquera, Colombia: Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (Corpoica).
- Tortella, G., Mella, R., Sousa, D., Rubilar, O., Briceño, G., Parra, L., & Diez, M. (2013). Carbendazim dissipation in the biomixture of on-farm biopurification systems and its effect on microbial communities. *Chemosphere*, 93(6), 1084-1093. doi:10.1016/j.chemosphere.2013.05.084.
- Vera, A., Olivero, J., Jaramillo, B., & Stashenko, E. (2010). Efecto protector del aceite esencial de *Lippia alba* (Mill.) N. E. Brown sobre la toxicidad del mercurocromo en raíces de *Allium cepa* L. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 15(1), 27-37.
- Villa, A., Pérez, R., Soto, J., Morales, H., Martínez, E., & Basurto, M. (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:10.15446/acag.v64n2.43358.
- Vozniuk, S., Tytova, L., Lyaska, S., & Lutynska, G. (2015). Influence of fungicides complex inoculum ekovital on rhizosphere microbiocenosis, diseases resistance and soybean productivity. *Mikrobiolohichnyi Zhurnal*, 77(4), 8-14.
- Yunlong, Y., Xiaoqiang, C., Guohui, P., Yueqin, X., & Hua, F. (2009). Effects of repeated applications of fungicide carbendazim on its persistence and microbial community in soil. *Journal of Environmental Sciences*, 21(2), 179-185.
- Zhao, S., Chen, X., Deng, S., Dong, X., Song, A., Yao, J., Fang, W., & Chen, F. (2016). The effects of fungicide, soil fumigant, bio-organic fertilizer and their combined application on *Chrysanthemum Fusarium* wilt controlling, soil enzyme activities and microbial properties. *Molecules*, 21(4), 526-541.

