

Actividad antifúngica de *Cymbopogon citratus* contra *Colletotrichum gloeosporioides*¹

Antifungal activity of *Cymbopogon citratus* against *Colletotrichum gloeosporioides*

Alexander Pérez-Cordero², Leonardo Chamorro-Anaya², Deimer Vitola-Romero², Jesús Hernández-Gómez²

Resumen

El objetivo de esta investigación consistió en evaluar *in vitro* la actividad inhibitoria de aceites esenciales de hojas frescas de *Cymbopogon citratus* (limoncillo) contra *Colletotrichum gloeosporioides* en ñame. El trabajo se efectuó en el departamento de Sucre, Colombia. Los aceites esenciales de *C. citratus* fueron recolectados en los municipios de Sincelejo, La Unión y Sampués, en septiembre y octubre de 2015. Para su extracción se utilizaron hojas frescas empleando el método hidrodestilación asistida por microondas. Se prepararon concentraciones de 5000, 8000 y 10 000 ppm de cada aceite esencial. Se utilizó un testigo absoluto, un control positivo (benomil 1 g/l) y un control negativo. La actividad inhibitoria se realizó por medio de la prueba de siembra directa en superficie en papa-dextrosa-agar y se expresó como porcentaje de índice de inhibición. La caracterización química de los aceites esenciales se realizó por cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masa. Los mayores porcentajes de índice antifúngico se observaron en el limoncillo de Sincelejo a concentración de 5000, 8000 y 10 000 ppm, La Unión a 8000 y 10 000 ppm y Sampués a 10 000 ppm, con un valor del 97,77%; el efecto fue similar al observado para el control positivo con benomil 1 g/l. El principal extracto de estos aceites esenciales correspondió a citral. Los aceites esenciales obtenidos de los tres municipios mostraron actividad antifúngica contra *C. gloeosporioides*.

Palabras claves: bioactividad, citral, ecotipo, antracnosis en ñame.

Abstract

The objective of this research was to evaluate *in vitro* the inhibitory activity of essential oils from fresh leaves of *Cymbopogon citratus* (lemongrass) against *Colletotrichum gloeosporioides* in yam. The research was conducted in the department of Sucre, Colombia. The essential oils of *C. citratus* were collected in the municipalities of Sincelejo, La Union and Sampues, in September and October 2015. The essential oil was extract from fresh leaves using the microwave-assisted hydrodistillation. Concentrations of 5000, 8000 and 10 000 ppm of each essential oil were prepared. An absolute control, a positive control (benomyl 1 g/l) and a negative control was used. An inhibitory activity was obtained by using the direct seeding on surface of the potato-dextrose-agar method and it was expressed as percentage of inhibition rate. The chemical characterization of essential oils was performed by gas chromatography coupled to mass spectrometry. The highest percentages of antifungal index were observed in the lemongrass from Sincelejo at concentrations of 5000, 8000 and 10 000 ppm, after in La Union at 8000 and 10 000 ppm, and finally at Sampues at 10 000 ppm, with a value of 97.77%; the effect was similar to the positive control with benomyl 1 g/l.

¹ Recibido: 5 de julio, 2016. Aceptado: 7 de noviembre, 2016. Este trabajo formó parte de la tesis de pregrado de los autores Deimer Vitola Romero y Jesús Hernández Gómez, para optar por el título de Biólogo. Universidad de Sucre, Colombia.

² Universidad de Sucre, Grupo de Bioprospección Agropecuaria, Sincelejo, Colombia. alexander.perez@unisucra.edu.co, lema1906@hotmail.com, deimervitolalaromero@gmail.com, jesus7hdez@gmail.com



Citral was the main constituent of the essential oils extracted. The essential oils obtained from the three municipalities showed antifungal activity against *C. gloeosporioides*.

Keywords: bioactivity, citral, ecotype, yam anthracnose.

Introducción

Colombia está denominado como uno de los diecisiete países megadiversos, hospedando el 70% de la biodiversidad mundial en tan solo el 10% del territorio (PNUMA, 2011), en donde se han registrado más de 54 000 especies (GBIF, 2014), compartiendo con Brasil el primer lugar en término de biodiversidad mundial y el segundo en diversidad de plantas (Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt, 2014). Por lo tanto, esta gran biodiversidad vegetal es una importante fuente de investigación para la búsqueda de metabolitos secundarios con actividad biológica contra microorganismos fitopatógenos que atacan cultivos de importancia económica, como es el caso de *Dioscorea* spp.

En la región Caribe colombiana son muchos los cultivos afectados por estos agentes patógenos, como es el caso del ñame (*Dioscorea* spp.), donde se centra la principal producción. En el 2010, Colombia se ubicó entre los doce países con mayor producción de ñame a nivel mundial con 395 374 toneladas y ocupó el primer lugar en rendimiento con 28,30 toneladas por hectárea sembrada (Reina, 2012).

Según el informe de coyuntura de la Secretaría de Desarrollo Económico y Medio Ambiente de Sucre (2009), las variedades de ñame más cultivadas son el criollo (*Dioscorea alata* L.) y espino (*Dioscorea rotundata* Poir), generando fuentes de empleo directos e indirectos en su cadena productiva, pero este tubérculo ha sido blanco de numerosos fitopatógenos como el hongo *C. gloeosporioides* responsable de causar la antracnosis, provocando pérdidas devastadoras (Pinzon et al., 2013).

En la segunda mitad de la década de los 80, la superficie cultivada de ñame en Colombia se redujo drásticamente en un 77,6%, debido a la antracnosis causada por *C. gloeosporioides* (Osorio et al., 2010), por lo tanto, la implementación de bioproductos representa una alternativa fitosanitaria y económica para minimizar dichos efectos.

La antracnosis en ñame se manifiesta en tubérculos, hojas, pecíolos y/o tallos; inicia en el haz de las hojas donde se presentan puntos rojizos de apariencia hendida con halo amarillo, y en el envés se observa ennegrecimiento de las nervaduras. Al avanzar la enfermedad, las lesiones crecen en forma irregular y se unen entre sí ocasionando finalmente necrosis en la hoja, también causa necrosis en el tallo y finalmente, la muerte descendente de la planta (Cerón et al., 2006).

Para el manejo de la enfermedad de la antracnosis en ñame, los cultivadores emplean dosis continuas de fungicidas como el benomil, el cual, en un comunicado emitido en 2008 por la Red de Acción en Plaguicidas y sus Alternativas para América Latina se indicó que este fungicida presenta una alta toxicidad sobre la vida humana y animal, además de causar problemas ambientales (RAP-AL, 2008).

Los aceites esenciales se han posicionado como alternativa agronómica para sustituir los plaguicidas sintéticos del mercado actual, por poseer propiedades antimicrobianas, como es el caso del aceite esencial de *C. citratus*, el cual ha mostrado importante actividad contra *C. acutatum* (Alzate et al., 2009). También el aceite esencial de *C. nardus* mostró amplio espectro de actividad antimicrobiana sobre cepas de bacterias y hongos aislados de cultivos *in vitro* de especies vegetales (Sánchez-García et al., 2007). Además de esto, pueden sustituir los aditivos sintéticos en los alimentos, favoreciendo la estabilidad de los mismos y protección contra las alteraciones lipídicas por su actividad antioxidante (Vásquez, 2012). Se ha demostrado que los aceites esenciales abundantes en citral poseen

propiedades bactericidas y fungicidas (Negrelle y Gomes, 2007). Asimismo, esta especie vegetal ha sido utilizada por la industria alimenticia, perfumería, cosmética, farmacéutica y en la fabricación de insecticidas. Sin embargo, al realizar comparaciones de perfiles cromatográficos hechos sobre el aceite esencial de *C. citratus* se encontró que presentaba como metabolito secundario mayoritario el geranial con valores entre 25,50 (Ríos, 2010) y 46,3% (Rodríguez et al., 2012).

El objetivo de esta investigación fue evaluar *in vitro* la actividad inhibitoria de aceites esenciales de hojas frescas de *Cymbopogon citratus* (limoncillo) contra *Colletotrichum gloeosporioides* en ñame.

Materiales y métodos

Recolección del material vegetal

Las plantas de limoncillos fueron recolectadas en el segundo semestre de 2014 en tres diferentes zonas del departamento de Sucre (Sincelejo, La Unión y Sampués), ubicadas a una altitud entre los 60 y 213 msnm y entre los 8° 51' 26" N, 75° 16' 36" O y 9° 17' 58" N, 75° 23' 45" O. El material vegetal se empacó en un contenedor de poliestireno expandido (icopor) y se preservó a 25 °C (Granados et al., 2012). Muestras de limoncillos, fueron enviadas al Herbario de la Universidad de Sucre, para corroborar su identidad taxonómica, mediante registro nacional de colecciones biológicas.

Procesamiento del material vegetal

Se recolectaron 500 g de hojas, que se lavaron con agua y se seleccionaron para garantizar su buen estado. Seguidamente se trocearon, pesaron y sometieron al proceso de extracción.

Extracción de los aceites esenciales

La extracción de los aceites esenciales de limoncillo se realizó por el método de hidrodestilación asistida por microondas (MWHD). Se empleó un equipo de hidrodestilación con capacidad para dos litros (balón de destilación). Se pesó una muestra de aproximadamente 300 g de material vegetal, seleccionado y troceado, y se introdujo en el balón de extracción, el cual contenía 300 ml de agua destilada. En el proceso de arrastre con vapor empleando calentamiento, el tiempo de extracción fue de 30 min. divididos en tres ciclos de 10 min. cada uno. Como fuente de radiación de microondas se empleó un horno convencional. Los aceites esenciales obtenidos se colectaron en un recipiente tipo DeanStark. El aceite esencial se separó por decantación e inmediatamente fue almacenado en un vial ámbar.

Rendimiento del aceite esencial

Para determinar el rendimiento de los aceites esenciales se utilizó la fórmula: $R=(V/M)*100$; donde R: rendimiento (%), V: volumen del aceite esencial (ml) y M: masa del material vegetal (g) (Pino et al., 2012).

Evaluación *in vitro* de la actividad antifúngica del aceite esencial

La prueba de actividad inhibitoria de aceites esenciales de limoncillo se llevó a cabo contra el hongo fitopatogénico identificado por la Universidad de los Andes como *C. gloeosporioides* (Penz.) Penz. & Sacc. Se

prepararon tres concentraciones de cada aceite esencial (5000, 8000 y 10 000 ppm), previamente deshidratados con sulfato de sodio anhídrido.

Para la prueba de actividad inhibitoria se utilizó el método de siembra directa en superficie del medio de cultivo con crecimiento puro del aislado de *C. gloeosporioides*. Se realizaron inóculos de *C. gloeosporioides* de aproximadamente seis mm de diámetro de área de crecimiento (Pérez et al., 2011), los cuales fueron sembrados sobre la superficie del medio papa dextrosa agar (PDA), enriquecido con los antibióticos cloranfenicol, ampicilina y rifampicina. La prueba de inhibición se desarrolló de la siguiente manera: a los aislados sembrados en PDA, se les adicionó 30 μ l de cada aceite esencial, a diferentes concentraciones, disuelto en acetona. Se utilizó un control positivo con benomil (1 g/l), el cual correspondió con las dosis utilizadas por los cultivadores de ñame en el departamento de Sucre, un testigo absoluto sin ningún tipo de tratamiento y un control negativo con acetona. Los ensayos se incubaron a 30 °C por ocho días en intervalos de luz y oscuridad. La actividad antifúngica del aceite esencial se evaluó midiendo el crecimiento radial de cada aislado con las diferentes concentraciones, después del octavo día. El resultado se interpretó como porcentaje de índice antifúngico: $\%I.A = [1 - (D_a/D_b)] \times 100$, donde D_a corresponde al crecimiento de cada tratamiento y D_b al crecimiento del testigo absoluto (Gou et al., 2008). Para determinar la eficiencia de cada aceite, se restó el %I.A del control negativo con acetona al %I.A de cada aceite esencial y se comparó con el control positivo.

Análisis por cromatografía de gases/espectrómetro de masa (GC/MS)

La determinación de los componentes químicos de los aceites esenciales se efectuó mediante la técnica instrumental de cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masa (GC/MS), con un equipo Agilent 6890N acoplado a un detector selectivo de masa Agilent 5973N. Los índices de Kóvats fueron determinados en una columna capilar ligeramente polar (DB_5MS), con longitud de 30 m x 320 μ m x 0,5 μ m. Como gas de arrastre se empleó el helio con una presión de 0,27 psi y un promedio de velocidad de flujo de 40 cm/s. La temperatura inicial del horno fue de 150 °C y la final de 350 °C. La temperatura del inyector fue de 250 °C y la del detector de 300 °C. La identidad de los componentes se asignó por comparación del espectro de masas obtenido experimentalmente para cada componente, con los reportados en las bases de datos de NIST98.L, NIST02.L y NIST5a.L.

Análisis de resultados

Todos los ensayos se realizaron por triplicado. Los resultados se expresaron como la media \pm DE (desviación estándar). Se realizó una prueba de Shapiro-Wilk para corroborar la normalidad de los datos, las diferencias significativas se determinaron mediante el análisis de varianza (ANOVA) y prueba de Tukey para establecer la correlación de la actividad antifúngica frente a los aceites esenciales, en función de la concentración utilizada. El análisis estadístico se realizó utilizando el programa R (R Development Core Team, 2009).

Resultados y discusión

Clasificación científica de limoncillo

La identidad taxonómica de los ejemplares recolectados en los diferentes municipios correspondió a la especie *Cymbopogon citratus* (DC. ex Ness) Stapf, perteneciente a la familia Poaceae, colección del Herbario de la Universidad de Sucre bajo registro N°000831.

Rendimiento del aceite esencial

El rendimiento del aceite esencial de *C. citratus* recolectado en los municipios Sincelejo, Sampués y La Unión fue de 0,29%, 0,68% y 0,66% (v/p), respectivamente. Este rendimiento indica que se puede proponer la explotación comercial del aceite esencial de esta especie vegetal, puesto que su rendimiento es superior a 0,1% que es el valor mínimo de rendimiento (Joulain, 1996).

El porcentaje de rendimiento en *C. citratus* se encontró cercano a los valores reportados en literatura de 0,645% (Cuéllar y Hussein, 2009), 1,06% (Ríos, 2010) y 1,22% (Mendoza y Taborda, 2010).

Evaluación *in vitro* de la actividad antifúngica de aceites esenciales de limoncillo

Los resultados de la prueba *in vitro* de actividad antifúngica contra *C. gloeosporioides*, para el ejemplar de limoncillo recolectado en la ciudad de Sincelejo, mostró actividad inhibitoria en las diferentes concentraciones con un valor de 97,77%. Para el aceite esencial del limoncillo recolectado en el municipio de La Unión, a concentraciones de 8000 y 10 000 ppm, se presentó la mayor eficiencia antifúngica de 97,77%, con respecto a la concentración de 5000 ppm, en el cual se obtuvo un %I.A de 29,28.

Con respecto al aceite esencial de limoncillo recolectado en el municipio de Sampués, la concentración de 10 000 ppm mostró un %I.A contra *C. gloeosporioides* de 97,77%, seguido de la concentración de 8000 ppm con 40,75% y un menor índice de inhibición se obtuvo a 5000 ppm con 24,80%.

Al comparar los mayores índices de inhibición de los aceites esenciales recolectados en los tres municipios, con los %I.A obtenidos para el control positivo (benomil a 1 g/l), se encontró que la eficiencia fue similar a la del control químico (Figura 1).

El análisis de varianza mostró diferencias significativas ($p\text{-value}=0,0003689$) entre los tratamientos de los limoncillos utilizados con respecto a índice de inhibición contra *C. gloeosporioides*. La prueba de normalidad de Shapiro-Wilk arrojó un $p\text{-value}=0,149$, lo que indicó que los datos se distribuyeron normal, y con la prueba de Tukey se encontró que los mayores %I.A, se observaron para limoncillo desde la concentración de 5000 ppm recolectados en Sincelejo, desde 8000 ppm para el aceite esencial de La Unión y para limoncillo de Sampués a 10 000 ppm (%I.A de 97,77%). No hubo diferencias significativas con respecto al control positivo con benomil. Los menores índices de actividad inhibitoria contra *C. gloeosporioides*, se observaron en el aceite esencial de limoncillo recolectado en Sampués a 5000 ppm (Figura 2).

La caracterización química del aceite esencial de limoncillo recolectado en las tres localidades, demostró que el metabolito secundario mayoritario en estos aceites fue el citral en concentraciones de 47,04% (Sincelejo), 43,98% (La Unión) y 38,34% (Sampués), respectivamente (Figura 3).

Los aceites esenciales de *Cymbopogon citratus*, obtenidos en las tres localidades presentaron constituyentes químicos similares, aunque a concentraciones diferentes; sin embargo, el limoncillo de Sincelejo mostró mayor eficiencia antifúngica contra *C. gloeosporioides* con un %I.A de 97,77% desde la menor concentración evaluada (5000 ppm). En contraste, con el limoncillo de La Unión que a la misma concentración el %I.A fue de 29,78% y tuvo que ser necesaria aplicar una concentración de 8 000 ppm para producir un efecto de inhibición de 97,77%. Además, el %I.A del limoncillo de Sampués a 5000 fue de 24,80%, por lo que solo se consiguió una inhibición de 97,77% aplicando una concentración de 10 000 ppm. Estos aceites esenciales corresponden al quimiotipo citral, por ser este su metabolito mayoritario.

Los resultados del perfil cromatográfico realizado en la especie de limoncillo recolectada en los tres municipios, presentaron los mismos metabolitos secundarios con pequeñas diferencias, como la de Spiro [5,5] undec-1-ene encontrada en el limoncillo de Sincelejo, mientras que en La Unión presentó Eucarvone y en Sampués

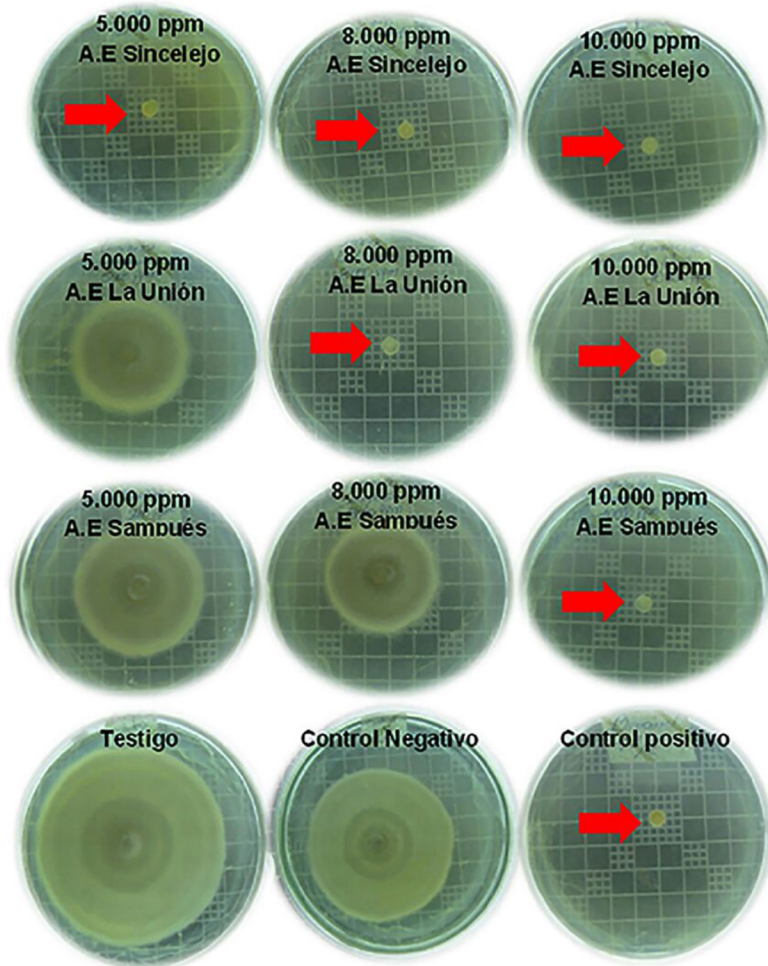


Figura 1. Resultados de la actividad antifúngica *in vitro* de aceite esencial de limoncillo *Cymbopogon citratus* a concentración de 5000, 8000 y 10 000 ppm, respectivamente, contra *C. gloeosporioides*, comparados con los controles negativos y positivos. Sincelejo, La Unión, Sampués, Colombia. 2015.

Figure 1. Results of *in vitro* antifungal activity of essential oil of lemongrass *Cymbopogon citratus* to concentration of 5000, 8000 and 10 000 ppm, respectively, against *C. gloeosporioides* compared to the negative and positive controls. Sincelejo, La Union, Sampues, Colombia. 2015.

3-5-Heptadienal, 2 etildieno 6 metil, con tiempos de retenciones muy similares. Solo en estos dos últimos aceites esenciales se encontró el Cariofileno (Cuadros 1 y 2).

El aceite esencial de *C. citratus*, recolectada en Sao Paulo, Brasil, presentó una concentración mínima inhibitoria entre 250 y 300 ppm (Duarte et al., 2010). Debido a que las concentraciones del experimento fueron altas, se sugiere evaluar concentraciones bajas de *C. gloeosporioides*. Se ha comprobado que este aceite esencial retrasa la esporulación y la longitud del tubo germinativo de *C. coccodes* (Tzortzakis y Economakis, 2007). Por otro lado, se demostró que entre 350 y 400 ppm se evita en un 100% la germinación de las esporas de *C. acutatum* con aceite esencial de hojas frescas de *C. citratus* recolectada en Antioquia, Colombia (Alzate et al., 2009). Concentraciones entre 0,25 y 0,3 mg/ml de aceite esencial de *C. citratus* mostraron actividad antagónica contra *C.*

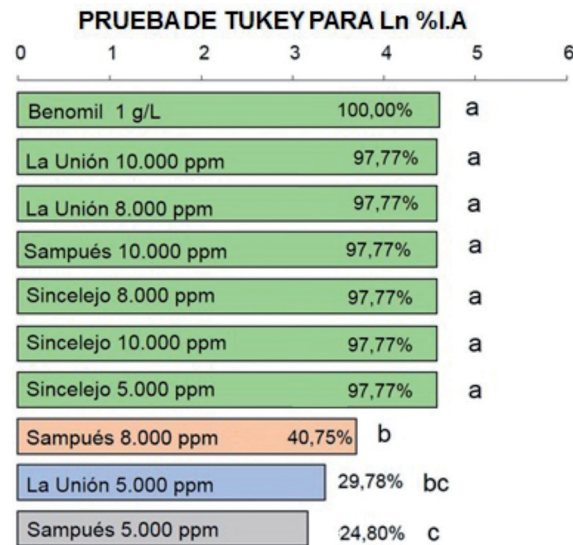


Figura 2. Prueba de Tukey para la comparación entre los tratamientos de aceite esencial de limoncillo (*Cymbopogon citratus*) a concentración de 5000, 8000 y 10 000 ppm, respectivamente, contra *C. gloeosporioides*, cosechados en los municipios de Sincelejo, La Unión y Sampués, Colombia. 2015. Tratamientos con letra igual no tienen diferencias significativas ($\alpha=0,05$). Ln= logaritmo natural, %I.A= porcentaje de índice antifúngico.

Figure 2. Tukey test for a comparison between treatments of lemongrass (*Cymbopogon citratus*) essential oil to a concentration of 5000, 8000 and 10 000 ppm, respectively, against *C. gloeosporioides*, harvested in the municipalities of Sincelejo, La Union and Sampues of Colombia. 2015. Treatments with the same letter are not significantly different ($\alpha=0.05$). Ln= natural logarithm, %I.A= antifungal percentage index.

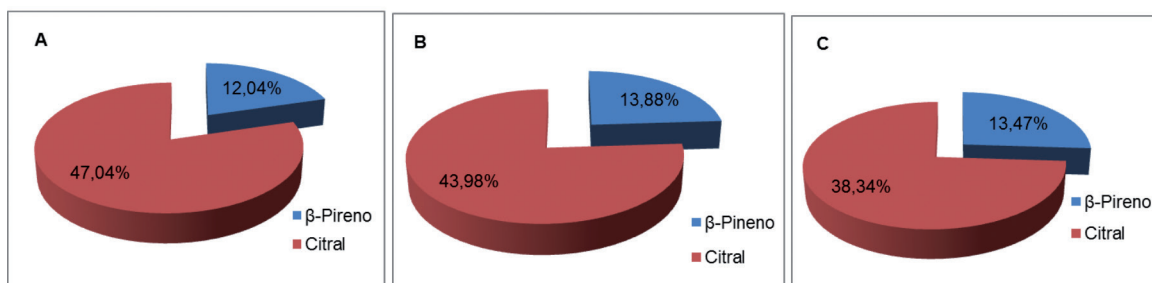


Figura 3. Metabolitos secundarios en el aceite esencial de limoncillo (*Cymbopogon citratus*) en tres zonas del departamento de Sucre: (A) Sincelejo, (B) La Unión (B) y (C) Sampués, Colombia. 2015.

Figure 3. Secondary metabolites in the essential oil of lemongrass (*Cymbopogon citratus*) in three areas of the department of Sucre: (A) Sincelejo, (B) La Union (B) and (C) Sampues, Colombia. 2015.

Cuadro 1. Perfil cromatográfico determinado por GC-MS del aceite esencial de limoncillo (*Cymbopogon citratus*) de La Unión, Sucre, recolectado en setiembre de 2015. Colombia.

Table 1. Chromatographic profile determined by GC-MS of the essential oil of lemongrass (*Cymbopogon citratus*) Union, Sucre, collected in September 2015. Colombia.

Pk#	RT	% área	Identificación
1	6,493	13,88	β -Mirceno + (1S)-(1)- β -Pinoeno
2	7,449	0,42	Pinoeno + β -Ocimeno
3	7,734	0,25	α,β -Ocimeno
4	9,104	1,16	Linalool
5	9,226	0,15	No
6	10,312	0,48	No
7	10,396	0,25	No
8	10,558	0,14	Citronelal
9	10,894	1,47	No
10	11,378	1,78	No
11	13,698	34,22	No
12	14,177	6,58	Geranial (citril A) + citral
13	14,790	37,4	Geranial (citril A) + citral
14	14,887	0,26	2-Undecanona
15	15,863	0,10	No
16	16,387	0,25	No
17	16,671	0,42	No
18	16,749	0,11	No
19	17,543	0,10	Cariofileno
20	17,860	0,22	Eucarvona
21	19,488	0,18	2-Tridecanona
22	22,338	0,17	No

gloeosporioides (Duarte et al., 2010). También se corroboró que se inhibe el 100% del crecimiento micelial de *C. gloeosporioides* con aceite esencial de limoncillo (Souza et al., 2009).

Los resultados también indicaron que el aceite esencial de *C. citratus* recolectado en el municipio de Sincelejo mostró mejor actividad inhibitoria contra *C. gloeosporioides*, puesto que presentó actividad similar al control positivo con benomil desde la concentración más baja. En contraste, los aceites esenciales de La Unión y Sampués mostraron el mismo efecto pero a 8000 ppm y 10 000 ppm, respectivamente.

El ecotipo recolectado en La Unión, subregión de San Jorge, presentó zonas de bosque húmedo, seco y muy seco tropical, así como sabanas naturales, con una altitud de 65 msnm, precipitación promedio anual de 2300 mm, temperatura promedio mensual de 28 °C y humedad relativa del 85% (Aguilera, 2005).

El ecotipo recolectado en Sincelejo, municipio perteneciente a la subregión de los Montes de María, se encontraba en una zona de bosque seco tropical cuyo paisaje característico es la montaña, con altitud aproximada a los 700 msnm en donde predomina la niebla en los bosques de ladera durante las primeras horas de la mañana y al atardecer (Gobernación de Sucre, 2008), por lo que, son productores de agua, esto permite que en la zona se

Cuadro 2. Perfil cromatográfico determinado por GC-MS del aceite esencial de limoncillo (*Cymbopogon citratus*) de Sampués, Sucre, recolectado en setiembre de 2015. Colombia.
Table 2. Chromatographic profile determined by GC-MS of the essential oil of lemongrass (*Cymbopogon citratus*) of Sampues, Sucre, collected in September 2015. Colombia.

Pk#	RT	% área	Identificación
1	6,448	13,47	β -Pino
2	7,436	0,46	β -Ocimeno + α -Pino
3	7,727	0,27	α,β -Ocimeno
4	7,863	0,10	No
5	9,097	1,59	Linalool
6	9,491	0,12	No
7	10,112	0,13	No
8	10,299	0,75	No
9	10,558	0,17	No
10	10,868	1,57	No
11	11,346	1,91	No
12	11,727	0,27	No
13	13,621	39,34	No
14	14,739	38,34	E-citral (geranial)
15	15,857	0,11	No
16	16,160	0,12	No
17	16,380	0,21	No
18	16,664	0,53	Acetato de geranilo
19	17,537	0,07	Cis-cariofileno
20	17,853	0,15	3,5-Heptadienal, 2-etilidene-6-metil-
21	19,482	0,14	2-Tridecanona
22	21,640	0,08	Óxido de cariofileno
23	22,338	0,11	No

presenten dos pisos térmicos que va de seco a húmedo: cálido y medio; en el primero, la temperatura ambiental está entre 26 °C y 30 °C, y en el segundo entre 20 °C y 24 °C, con precipitación anual promedio de 1500 mm y humedad relativa entre 75% y 85% (Aguilera, 2013). Presenta un régimen pluviométrico bimodal con mayores precipitaciones en los meses de setiembre a noviembre y mayo a junio (Promontes, 2003).

Y por último, el ecotipo recolectado en Sampués, municipio perteneciente a la subregión de Sabana, se inicia a partir del declive de los Montes de María hasta inicios de la depresión del bajo Cauca y San Jorge, conformado por numerosas sierras y colinas formando ondulaciones que van desde los 70 hasta 185 msnm, es la subregión que padece con mayor rigor la estación seca, y su clima característico de zonas de bosque seco tropical, con pocos relictos de vegetación secundaria y predominio de paisaje de lomerío; por la fuerte intervención humana, se le conoce como sabanas antrópicas cuya temperatura promedio anual es de 27,2 °C, la precipitación promedio anual fluctúa entre 990 y 1275 mm y la humedad relativa es de 80% (Aguilera, 2005).

Estos factores climáticos como el régimen de precipitaciones puede alterar el rendimiento en la producción de eugenol presente en el aceite esencial por parte de la planta. Por lo tanto, al comparar la concentración de eugenol encontrada en los aceites esenciales en cada uno de los tres ecotipos y el régimen de precipitación en las subregiones de colecta, se encontró que son variables inversamente proporcionales, puesto que en el municipio de La Unión, la concentración de eugenol fue de 45,15%; en Sincelejo fue de 75,44%, y por último, en el municipio de Sampués, la concentración de eugenol fue de 80,28%. Esto indica que la producción de eugenol es más eficiente cuando los regímenes de precipitaciones son bajas y por consiguiente, la planta puede verse sometida a estrés hídrico y, caso contrario ocurre cuando la planta se encuentra en ecosistema donde el volumen de precipitación es más alto. Se sugiere continuar evaluando el uso del aceite esencial de *C. citratus* del municipio de Sincelejo a 5000 ppm para combatir a *C. gloeosporioides*, con el objetivo de reducir el uso de agrotóxicos utilizados para contrarrestar este fitopatógeno.

Literatura citada

- Aguilera, M. 2005. La economía del departamento de Sucre: ganadería y sector público. Banco de República de Colombia y Centros de Estudios Económicos Regionales (CEER), Cartagena, COL.
- Aguilera, M. 2013. Montes de María: una subregión de economía campesina y empresarial. Banco de República de Colombia y Centros de Estudios Económicos Regionales (CEER), Cartagena, COL.
- Alzate, D., G. Mier, L. Afanador, D. Durango, y C. García. 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* 16:116-125.
- Cerón, L.E., B.L. Higuera., J. Sánchez, S. Bustamante, y G. Buitrago. 2006. Crecimiento y desarrollo de *Colletotrichum gloeosporioides* f. *alatae* durante su cultivo en medios líquidos. *Acta Biol. Colomb.* 11:99-109.
- Cuéllar, A., and R. Hussein. 2009. Evaluation of the yield and the antimicrobial activity of the essential oils from: *Eucalyptus globulus*, *Cymbopogon citratus* and *Rosmarinus officinalis* in Mbarara district (Uganda). *Rev. Colomb. Cienc. Anim.* 1:240-249.
- Duarte, N., F. Schmidt, M. Teixeira, G. Figueira, C. Delarmelina, E. Aparecida, and A. Sartoratto. 2010. Control of *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Sacc. in yellow passion fruit using *Cymbopogon citratus* essential oil. *Braz. J. Microbiol.* 41:66-73.
- Gobernación de Sucre. 2008. Nuestro departamento: subregiones del departamento de Sucre. http://www.sucre.gov.co/mapas_municipio.shtml?apc=bcxx-1-&x=1516225 (consultado 19 nov. 2015).
- Gou, Z., R. Xing, S. Liu, Z. Zhong, X. Ji, L. Wang, and P. Li. 2008. The influence of molecular weight of quaternized chitosan on antifungal activity. *Carbohydrate Polymers* 71:694-697. doi:d10.1016/j.carbpol.2007.06.027.
- Granados, C., X. Yáñez, y G. Santefé. 2012. Evaluación de la actividad antioxidante del aceite esencial foliar de *Calycolpus moritzianus* y *Minthostachys mollis* de Norte de Santander. *Bistua* 10:12-23.
- Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt. 2014. Investigación en biodiversidad y servicios ecosistémicos para la toma de decisiones. Bogotá, COL. <http://www.humboldt.org.co/es/biodiversidad/que-es-la-biodiversidad> (consultado 21 dic. 2014).
- Joulain, D. 1996. Investigating new essential oils: rationale, results and limitations. *Perfumer & Flavorist* 21:1-10.

- Mendoza, D., y M. Taborda. 2010. Composición química y actividad acaricida del aceite esencial de *Cymbopogon citratus* Stapf contra el ácaro intradomiciliario *Dermatophagoides farinae* (Acari:Pyroglyphidae). *Biosalud* 9:21-31.
- Negrelle, R.B., and E.C. Gomes. 2007. *Cymbopogon citratus* [DC]. Stapf: chemical composition and biological activities. *Rev. Bras. Pl. Med.* 9:80-92.
- Osorio, J., E. Bustamante, M. Macareno, E. Hernández, y J. Beltrán. 2010. Aislamiento enzimático de protoplastos a partir de mesófilos de *Dioscorea alata* cultivare "Bottle Peak". *Temas Agrarios* 15:58-70.
- Pérez, A., J. Rojas, L. Chamorro, y K. Pérez. 2011. Evaluación *in vitro* de actividad inhibitoria de extractos vegetales sobre cepas de hongos del género *Colletotrichum* sp. *Acta Agron.* 60:158-164.
- Pino, O., Y. Sánchez, M.M. Rojas, Y. Abreu, y T.M. Correa. 2012. Composición química y actividad antibacteriana del aceite esencial de *Pimpinella anisum* L. *Rev. Protección Veg.* 27:181-187.
- Pinzon, Y.A., S.L. Bustamante, y G. Buitrago. 2013. Diagnóstico molecular diferencial de *Colletotrichum gloeosporioides* y *Fusarium oxysporum* en ñame (*Dioscorea* sp.). *Rev. Colomb. Biotecnol.* 15:52-60.
- PNUMA (Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente). 2011. Decenio de las Naciones Unidas sobre la Biodiversidad 2011-2020. Ciudad de Panamá, PAN. <http://www.pnuma.org/biodiversidad/index.php>. (consultado 21 dic. 2014).
- Promontes. 2003. Programa de desarrollo y paz de los Montes de María: Convenio COL.01/054. PNUD, Corporación Territorios y Universidad de Cartagena, Bogotá, COL.
- R Development Core Team. 2009. R language and environment for statistical computing (version 3.1.1). R Foundation for Statistical Computing, Vienna, AUT.
- RAP-AL (Red de Acción en Plaguicidas y sus Alternativas para América Latina). 2008. Plaguicidas con prontuario. http://www.rap-al.org/articulos_files/Benomil_Enlace_81.pdf (consultado 29 abr. 2016).
- Reina, Y. 2012. El cultivo del ñame en el Caribe colombiano. Documento de trabajo sobre economía regional: 168. Banco de la República, Centro de Estudios Económicos Regionales (CEER), Cartagena, COL.
- Ríos, V. 2010. Evaluación del aceite esencial y estudio de conservación en frío del *Cymbopogon citratus* cultivado en la región del Quindío. *Rev. Invest. Univ.* 20:24-28.
- Rodríguez, Q., C. Ruíz, G. Arias, H. Castro, J. Martínez, y E. Stashenko. 2012. Estudio comparativo de la composición de los aceites esenciales de cuatro especies del género *Cymbopogon* (Poaceae) cultivadas en Colombia. *Blacpma* 11:77-85.
- Sánchez-García, C., M. Cruz-Martín, Y. Alvarado-Capó, M. Pérez, M. Medinilla, M. Acosta-Suárez, M. Leiva-Mora, y B. Roque. 2007. Evaluación de efecto del aceite esencial de *Cymbopogon nardus* para el control de microorganismos contaminantes del cultivo *in vitro* de plantas. *Biot. Veg.* 7:187-190.
- Secretaría de Desarrollo Económico y Medio Ambiente de Sucre. 2009. Informe de coyuntura. Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural, Sincelejo, Sucre, COL.
- Souza, T., N. Pereira, e E. Ronei. 2009. Efeito fungitóxico de óleos essenciais sobre *Colletotrichum gloeosporioides*, isolado do maracujazeiro amarelo. *Biotemas* 22:77-83.
- GBIF (The Global Biodiversity Information Facility). 2014. GBIF backbone taxonomy. The global biodiversity information facility. <http://www.gbif.org/species/6> (accessed 12 mar. 2015).
- Tzortzakís, N., and D. Economakís. 2007. Antifungal activity of lemongrass (*Cymbopogon citratus* L.) essential oil against key postharvest pathogens. *Innov. Food Sci. Emerg.* 8:253-258.
- Vásquez, D. 2012. El orégano de monte (*Lippia origanoides*) del Alto Patía: efecto del método de obtención de sus extractos sobre la composición y la actividad antioxidante de los mismos. Tesis MSc., Universidad Nacional de Colombia, Bogotá D.C., COL.