

Efectividad biológica de extractos vegetales en el control *in vitro* de la bacteria fitopatógena *Xanthomona*

Jenny Chirinos, Barlin Olivares y Eunice Guevara

Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas del Estado Anzoátegui. Venezuela

jennyysa@hotmail.com; barlinolivares@gmail.com; euniceguevara@gmail.com

Resumen

El manejo de las enfermedades bacterianas en plantas se ha hecho mundialmente difícil debido a la resistencia a los productos químicos que durante muchos años han sido empleados en la agricultura. El uso de extractos acuosos vegetales como bactericidas naturales para el control de las bacterias fitopatógenas, representa una nueva alternativa agroecológica para los agricultores. El objetivo del trabajo es evaluar el efecto bactericida de 16 extractos de plantas en el control de las bacterias fitopatógenas del género *Xanthomonas*. Para la obtención de los extractos se utilizaron 200 g de hojas de cada especie evaluada la cual se licuó con 1000 mL de agua destilada. Las evaluaciones fueron realizadas a partir de las 48 h, realizando conteo de las colonias de *Xanthomonas axonaphodi* pv. *manihotis* y *Xanthomona* sp observadas en el medio con el extracto. Los resultados mostraron que de todos los extractos vegetales probados, solo cuatro de ellos demostraron inhibición significativa del crecimiento de bacteria *X axonaphodi* pv. *manihotis* estos son: *Syzygium cumini* L, *Mespilus germanica* L, *Pinus pinea* L y *Cassia javanica* L. Para *Xanthomona* sp los extractos que lograron controlarla fueron *Salix babilónica* L, *Syzygium cumini* L, *Mespilus germanica* L, *Tamarindus indica* L, *Solanum nigrum*, *Passiflora edulis* L y *Anacardium occidentale-Quercus coccifera* L. Los extractos de *Mespilus germanica* L y *Syzygium cumini* L. poseen un gran potencial para el control de bacterias del genero *Xantomonas*. Lo que sugiere que estos pueden ser una alternativa para el manejo integrado de las enfermedades en los cultivos de la zona agrícola.

Palabras clave: agroecología, control, extracto natural, inhibición, *Xanthomonas*.

Biological Effectiveness of Plant Extracts in *In Vitro* Control of the Phytopathogenic *Xanthomona* Bacterium

Abstract

The handling of bacterial diseases in plants has become widely difficult because of the resistance to chemicals used for many years in agriculture. The use of plant water extracts as a natural bactericide for controlling phytopathogenic bacteria represents a new agroecological alternative for farmers. The aim of this study was to evaluate the bactericidal effect of 16 plant extracts in controlling plant pathogenic bacteria of the genus *Xanthomonas*. To obtain the extracts, 200 g of leaves were used for each species tested, which were liquefied with 1000 ml of distilled water. Assessments were made after 48 h, counting the axonophodi *Xanthomonas* sp. v. *manihotis* and sp *Xanthomonas* colonies observed in the medium with the extract. Results showed that out of all the plant extracts tested, only four showed significant inhibition of the growth of bacteria *X. axonophodi* pv. *Manihotis*. These are: *Syzygium cumini* L, *Mespilus germanica* L, *Pinus pinea* L and *Cassia javanica* L. For *Xanthomonas* sp, the extracts that achieved control were *Salix babylonian* L, *Syzygium cumini* L, *Mespilus germanica* L, *Tamarindus indica* L, *Solanum nigrum*, *Passiflora edulis* L and *Cashew-Quercus coccifera* L. The extracts of *Mespilus germanica* and *Syzygium cumini* L. have great potential for controlling bacteria of the genus *Xanthomonas*. The study suggests that these plant extracts may be an alternative for the integrated management of agricultural crop diseases in the area.

Keywords: agroecology, control, natural extract, inhibition, *Xanthomonas*.

Introducción

Las enfermedades representan uno de los factores que limitan la producción de las planta *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* (*Xam*); es una bacteria responsable de ocasionar la Bacteriosis en yuca, la cual es la principal enfermedad que afecta a este cultivo. Esta bacteria es un patógeno epífita, foliar y vascular que produce una amplia variedad de síntomas que son en la mayoría de los casos visibles únicamente en las hojas y en los tallos, esta patógeno es importante debido a que en muchos casos produce pérdidas totales en los cultivos [12, 16].

La bacteriosis es una enfermedad endémica importante en Latino América y África y se encuentra en todas las regiones donde la yuca es cultivada. Generalmente el control de esta enfermedad se realiza con productos químicos, sin ningún tipo de control en su uso, lo que ha ocasionado grave daño al ambiente y a la salud humana. Los movimientos ecológicos a nivel mundial han cobrado mayor importancia, incentivado el uso de sustancias naturales para el control de plagas y enfermedades en vegetales, a tal punto

que muchos productos de exportación deben adecuarse a las condiciones de cultivo orgánico, es decir que no hayan recibido tratamiento químico [11].

Los plaguicidas naturales más conocidos y utilizados a nivel mundial, son aquellos para el control de insectos, entre los que se encuentran la Cebolla (*Allium cepa*), El Tabaco, Semillas de Paraíso, Ortiga, Piretro [13], en cambio la información referente a extractos vegetales para el control de enfermedades bacteriales es mucho más escasa, debido principalmente a que los cambios son menos evidentes y por lo tanto más difíciles de estudiar. El efecto de extractos de ciertos vegetales tales como el Ajo (*Allium sativum*) y la Cola de Caballo (*Equisetum arvense*) en el control de enfermedades fungosas y bacteriales en plantas es conocido mundialmente [11, 10, 3], sin embargo existe poca información sobre otros extractos que tenga el mismo efecto.

El control de bacteria fitopatógenas mediante los extractos vegetales se debe principalmente a la acción fundamental de los aleloquímicos los cuales son considerados metabolitos secundarios que se lixivian de las plantas por diferentes vías. La alelopatía ha probado ser una alternati-

va como método de control de plagas, enfermedades y malezas. La introducción de esta nueva tecnología pudiera reducir las pérdidas causadas en la agricultura, proporcionando protección a los cultivos, productos biológicos menos dañinos y muchos más fácilmente degradables, lo que implica menor contaminación al medio ambiente [11, 17].

En este sentido, surge la necesidad de desarrollar un nuevo concepto de protección de cultivos mediante productos a base de plantas con propiedades antimicrobianas, en cuyo diseño se consideran: la acción específica sobre el patógeno y el bajo impacto en el cultivo y en los organismos circundantes en el sistema ambiental [15].

En Venezuela, bajo los lineamientos del Proyecto Nacional Simón Bolívar (2007-2021), se establecen las bases firmes para impulsar el logro de un desarrollo sostenible interno que posibilite la creación de nuevas alternativas de uso y manejo de tecnologías con un enfoque ecológico, necesarias para alcanzar y sostener el desarrollo, mediante el fortalecimiento de la capacidad de innovar, importar, modificar y divulgar tecnologías orientadas primordialmente a la satisfacción de las necesidades humanas. En este orden de ideas, esta investigación representa una alternativa viable en el marco del desarrollo sostenible de la nación; ello permitirá contribuir con un desarrollo endógeno, con una nueva visión de la soberanía y seguridad alimentaria,

lo cual implica la disminución del uso de agroquímicos, de tecnologías de alto insumo, con el consecuente aumento de la calidad de vida de estas comunidades y de los consumidores finales de alimentos. Este trabajo tuvo como objetivo evaluar el efecto bactericida de 16 extractos de plantas en la bacteria *Xanthomonas*.

Materiales y métodos

Especies vegetales evaluadas

Para este estudio se seleccionaron 16 especies de plantas pertenecientes a 15 familias, entre herbáceas y leñosas (Cuadro 1). La recolección de la plantas se realizó en el Campo Experimental del Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA) del estado Anzoátegui, Venezuela. El criterio para la selección se basó en las condiciones físicas y sanitarias de las plantas. Posteriormente, se recolectaron, aproximadamente 0.25 kg de la parte (hoja o tallo) de cada especie y se depositaron en bolsas plástica para luego identificarlas en el Laboratorio de Fitopatología del INIA.

Preparación del extracto vegetal

Para el preparado de los extractos, se utilizaron las hojas de las diferentes especies de plantas a las cuales se pro-

Cuadro 1. Especies vegetales utilizadas para la preparación de los extractos acuosos de plantas.

Nº	Nombre vulgar	Nombre científico	Familia
1	Rabo Alacrán	<i>Borago officinalis</i> L	Boraginaceae
2	Malojillo	<i>Cymbopogon citratus</i> L	Poaceae
3	Sauce	<i>Salix babilónica</i> L	Salicaceae
4	Pesgua	<i>Syzygium cumini</i> L	Myrtaceae
5	Cariaquito	<i>Lantana trifolia</i> L	Verbenaceae
6	Níspero	<i>Mespilus germanica</i> L	Rosaceae
7	Matarratón-Malojillo	<i>Gliricidia sepium</i> L <i>Cymbopogon Citratus</i> L	Fabaceae Poaceae
8	Tamarindo	<i>Tamarindus indica</i> L	Fabaceae
9	Mamón	<i>Melicocca bijuga</i> L	Sapindaceae
10	Sáuco	<i>Sambucus nigra</i> L	Adoxaceae
11	Hierba mora	<i>Solanum nigrum</i> L	Solanaceae
12	Pino	<i>Pinus pinea</i> L	Pinaceae
13	Parchita	<i>Passiflora edulis</i> L	Passifloraceae
14	Cassia	<i>Cassia javanica</i> L	Fabaceae
15	Merey-Chaparro	<i>Anacardium occidentale</i> <i>Quercus coccifera</i> L	Anacardiaceae Fagaceae
16	Flor escondida	<i>Phyllanthus niruri</i> L	Phyllanthaceae

Fuente: propia.

cedió al lavado, secado y picado en trozos pequeños, posteriormente se procedió a licuar las hojas con 1000 mL de agua destilada. Después se tomó 200 mL del licuado, se le añadió 800 mL de agua destilada y los 23 g de agar nutritivo. Se llevó a cocción a punto de hervor 15 min. Todos los extractos fueron preparados en mismo día de su utilización.

Preparación del inóculo de las bacterias

Los patógenos bacterianos utilizados fueron las bacterias *Xanthomonas axonophodi* pv. *manihoti* y *Xanthomona* sp. El inóculo de cada bacteria se preparó utilizando un cultivo puro de 24 h de crecimiento, en agua destilada esterilizada; después se distribuyó uniformemente a razón de 95 μ L en placas de Petri conteniendo 20 mL del medio con cada uno de los extractos. Las placas inoculadas se dejaron en reposo por una h para favorecer la disposición de los patógenos sobre el sustrato. El testigo solo tenía agar nutritivo con el patógeno respectivo. Cada tratamiento (Extracto vegetal/patógeno) tuvo cuatro repeticiones. Las placas fueron incubadas a 26°C, bajo luz continua a fin de inducir el crecimiento de los patógenos. Las evaluaciones

se realizaron a partir de las 48 h, midiendo el número de colonias presente en cada repetición por extracto.

Análisis de los datos

Utilizando el paquete estadístico INFOSTAT versión 9.0 [6] se generó el análisis estadístico descriptivo: media, desviación estándar, varianza, error estándar de la media, coeficiente de variación (%), y valores mínimos y máximos. Se asume la normalidad de los datos. Para la diferencia entre tratamientos se realizó la prueba de Tukey ($p < 0,05$).

Resultados y discusión

Los análisis estadísticos mostraron diferencias altamente significativas ($P = 0.01$) entre tratamientos. Los extractos acuosos de Pesgua y Níspero fueron los que lograron inhibir completamente el desarrollo de las colonias de las bacterias *Xanthomona axonophodi* pv. *manihoti*, seguido del extracto de *Pinus pinea* L y *Cassia javanica* L (Cuadro 2). Con relación a la bacteria *Xanthomona* sp, los extractos que tuvieron efecto bactericida fueron *Mespilus*

Cuadro 2. Grupos de extractos vegetales en función del efecto inhibitor del crecimiento de colonias de las bacterias *Xanthomona axonophodi* pv. *manihoti*, según Test de Tukey.

Tratamiento	Medias	n	Grupos		
<i>Mespilus germanica</i> L	0,00	4	A		
<i>Syzygium cumini</i> L	0,00	4	A		
<i>Pinus pinea</i> L	0,50	4	A		
<i>Cassia javanica</i> L	1,25	4	A		
<i>Salix babilónica</i> L	68,75	4	A	B	
<i>Phyllanthus niruri</i> L	92,50	4		B	C
<i>Gliricidia sepium</i> L	138,25	4		B	C
<i>Cymbopogon Citratus</i> L					D
<i>Cymbopogon citratus</i> L	141,00	4		B	C
<i>Solanum nigrum</i> L	150,00	4			C
<i>Lantana trifolia</i> L	157,00	4			C
<i>Passiflora edulis</i> L	163,75	4			C
<i>Tamarindus indica</i> L	168,00	4			C
<i>Melicocca bijuga</i> L	183,00	4			D
<i>Anacardium occidentale</i>	187,00	4			D
<i>Quercus coccifera</i> L					D
<i>Borago officinalis</i> L	189,75	4			D
<i>Sambucus nigra</i> L	199,75	4			D
Testigo	392,50	4			E

Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$).

Fuente: propia.

germanica L., *Syzygium cumini* L., *Salix babilónica* L, *Tamarindus indica* L, *Solanum nigrum* L, *Passiflora edulis* L y *Anacardium occidentale-Quercus coccifera* L ya que lograron inhibir por completo el crecimiento de bacterias en el medio (Cuadro 3).

El Gráfico 1 muestra claramente la variación de los tratamientos utilizados para inhibir el crecimiento de las bacteria *Xanthomona axonophodi* pv. *manihoti*. y *Xanthomona* sp. Observándose que algunos extractos tales como Pino y Cassia no presentaron un efecto significativo en la inhibición del crecimiento en las colonias Bacteria *Xanthomona* sp. Así mismo, los extractos con Sause, Tamarindo, Hierba Mora, Parchita y Merrey-Chaparro mostraron efectos inhibitor en el crecimiento de la bacteria *Xanthomona axonophodi* pv. *manihoti*.

La capacidad del extracto de pino de inhibir el crecimiento de ciertas bacterias, es conocida y en este estudio se han corroborado dichas cualidades, estos resultados coincide con los obtenidos por Staufer *et al.* [14] quienes lograron la inhibición de la bacteria *Xanthomonas campestris* pv *campestris* con el extracto de pino. También, Guevara *et al.* [5], encontró efecto bactericida del extracto

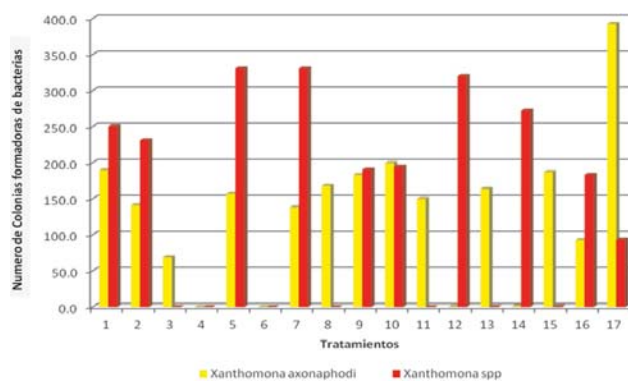


Gráfico 1. Número de colonias por cada extracto vegetal evaluado para las bacterias *Xanthomona axonophodi* pv. *manihoti*. y *Xanthomona* sp.

de mamón para el control de *Pseudomonas* sp., bacteria patógena del banano. Además, diversos autores han señalado la reacción inhibitoria de extractos naturales frente a especies del genero *Xanthomonas*.

En este sentido, García y Rodríguez [4] probaron extractos acuosos de diversas plantas frente a cultivos puros de *Xanthomonas campestris* pv *campestris*, y observaron que los extractos de *Ruta graveolens*, *Jaracanda acutifolia* y

Cuadro 3. Grupos de extractos vegetales en función del efecto inhibitor del crecimiento de colonias de las bacterias *Xanthomona* sp. Según Test de Tukey.

Tratamientos	Medias	n	Grupos				
<i>Mespilus germanica</i> L	0,00	4	A				
<i>Syzygium cumini</i> L	0,00	4	A				
<i>Salix babilónica</i> L	0,00	4	A				
<i>Tamarindus indica</i> L	0,00	4	A				
<i>Solanum nigrum</i> L	0,00	4	A				
<i>Passiflora edulis</i> L	0,25	4	A				
<i>Anacardium occidentale</i> <i>Quercus coccifera</i> L	0,50	4	A				
Testigo	93,25	4	B				
<i>Phyllanthus niruri</i> L	183,25	4		C			
<i>Melicocca bijuga</i> L	190,50	4		C			
<i>Sambucus nigra</i> L	194,50	4		C			
<i>Cymbopogon citratus</i> L	231,25	4		C	D		
<i>Borago officinalis</i> L	250,50	4		C	D	E	
<i>Cassia javanica</i> L	272,75	4			D	E	F
<i>Pinus pinea</i> L	320,25	4				E	F
<i>Lantana trifolia</i> L	331,00	4					F
<i>Gliricidia sepium</i> L	331,00	4					F
<i>Cymbopogon Citratus</i> L							F

Letras distintas indican diferencias significativas (p<= 0,05).

Fuente: propia.

Aloe vera poseen propiedades bactericidas contra la bacteria. Por su parte, Csizinszky *et al.* [2], encontraron que los extractos de *Zingiber chysanthemi*, *Ruta chalepensis*, *Jaracanda acutifolia* y *Aloe vera* mostraron efecto bactericida frente a *Xanthomonas campestris pv begoniae*, *Xanthomonas campestris pv campestris* y *Xanthomonas campestris pv phaseoli* con extractos de *Matricaria recutita* y *Chamaemelia nobile* donde fue posible inhibir el crecimiento de diferentes cepas de *Xanthomonas axonopodis pv citri*.

Diversos autores han señalado la reacción inhibitoria de extractos naturales frente a bacterias del género *Xanthomonas*. En este sentido, Stefanova *et al.* [15] probaron extractos acuosos de diversas plantas frente a cultivos puros de *Xanthomonas campestris pv campestris*, y encontraron que los provenientes de *Ruta graveolens*, *Jaracanda acutifolia* y *Aloe vera* poseen propiedades bactericidas. En este orden de ideas, Puentes *et al.* [11] demostraron la actividad alelopática de especies vegetales como *Polyscia guilfoyley* Bailey (aralia), *Parthenium hysterophorus*, L. (escoba amarga), *Helianthus annuus* L. (girasol) y *Muralla paniculata* L. (muralla) sobre el crecimiento y desarrollo de especies de hongos como *Fusarium oxysporum* Slecht. y *Rhizoctonia solani* Kühn entre otros, probados en condiciones de laboratorio.

En condiciones tropicales, se ha determinado el efecto de extractos de ciertos vegetales tales como el Ajo (*Allium sativum*) y la Cola de Caballo (*Equisetum arvense*) en el control de enfermedades fungosas y bacterianas en plantas de interés agrícola de Brasil [1, 6-8, 3].

La aplicación de los extractos vegetales como agentes del control de enfermedades de plantas, podría minimizar las pérdidas que pueden ocasionar las diversas enfermedades bacterianas causadas por el género *Xanthomona* en cultivos de importancia y por consiguiente podría aumentar la productividad al reducir los costos por el empleo de agroquímicos, con una notable disminución de la contaminación ambiental.

Conclusiones

Los extractos de Pesgua (*Syzygium cumini* L) y Níspero (*Mespilus germanica* L) mostraron marcado efecto inhibitorio *in vitro* de la especie *Xanthomonas axonopodis pv manihotis* y *Xanthomonas* sp. logrando inhibir completamente el desarrollo de las colonias de bacterias estudiadas.

Referencias

- [1] BARROS, S.T.; OLIVERIRA N.T.; MAIA, L.C. (1993). Efeito do estrato de bulbo de alho (*Allium sativum*) sobre o crescimento micelial e germinacao de conidios de alguns fungos fitopatogenicos. **Fitopatologia Brasileira, Brasilia**, Vol. 18: 302.
- [2] CSZINSZKY, A.A.; JORNES, J.B.; CIVEROLO, E.L. (1993) Inactivation of *Xanthomonas campestris* in vitro with Plant Extracts, ISHS, **Acta Horticulture** (331) [En línea] [consultado el 10 Enero de 2012]. Disponible en: [http://www. Actahort.org/books/331/331_40.htm](http://www.Actahort.org/books/331/331_40.htm)
- [3] CHALFOUN, S.M.; CARVALHO, V.D. (1991). Controle de fungos patogenicos a traves de extratos vegetais (Bulbos de alho e folhas de alho e cebola) **Fitopatologia Brasileira, Brasilia**, Vol. 16: 30.
- [4] GARCÍA, B.; RODRÍGUEZ M. (1994). Control de vena negra de las crucíferas (*Xanthomonas campestris pv campestris*) en col (*Brassica oleracea var. capitata* L) con extractos vegetales e incorporación de tejido foliar al suelo en Chapingo, estado de México, México, **Revista Chapingo, serie protección vegetal**, (1):35-38.
- [5] GUEVARA, Yolanda; MASELLI, Anna; SÁNCHEZ, María del Carmen (1999). Uso potencial de extractos de plantas para el control de bacterias pertenecientes a los géneros *Erwinia* y *Pseudomonas*. Memorias formato CD-ROM del XVI Congreso Venezolano de Fitopatología. Barquisimeto, Venezuela.
- [6] INFOSTAT (2008). Infostat for Windows Version 9.0. Grupo Infostat. Inc. Facultad de Ciencias Agrícolas. Universidad. Nacional de Córdoba. Argentina.
- [7] LIMA, G.S.A.; SANTANA LÓPEZ, A.M.G. (1993). Efeito de extractos aquosos de bulbos de alho *allium sativum* sobre a germinacao e o crescimento mecelial de *Botryodiplodia theobromae* Pat. *In vitro*. **Fitopatologia Brasileira, Brasilia**, Vol 18: 303.
- [8] MORENO, S.; GONZÁLEZ, L.N.; SALCEDO, S.M.; CÁRDENAS, M.L.; PERALES, A. (2011). Efecto antifúngico de extractos de gobernadora (*Larrea tridentata*.) sobre la inhibición *in vitro* de *Aspergillus flavus* y *Penicillium* sp. **Polibotanica** 32: 193-205.
- [9] PÉREZ, Alexander; ROJAS, Johana; RODRÍGUEZ, Johana; DONCEL, Arturo; ARRIETA, Irma; ARRIETA, Jenny; MARTÍNEZ, José; MIELES, Jorge; RODRÍGUEZ, Andrés; CHAMORRO Leonardo (2011) Evaluación de métodos para medir la actividad inhibitoria de extractos vegetales nativos del departamento de sucre sobre bacterias y levadura patógenas. **Revista colombiana de ciencia animal**. Vol. 3 (1):90-101
- [10] PRIMAVESI, Ana (1988). **Manejo Ecológico de pragas e doencias: Tencnicas alternativas para a producto agropecuaria e defensa do medio ambiente**. Sao Paulo. Nobel. ISB. 85-213-0546-X.
- [11] PUENTE Isidró, Mayra; ALLAERT, Kathleen; HERRERA Isla, Lidcay; SUÁREZ, Norma; TORRES, Sinesio; PÉREZ, Carlos; RODRÍGUEZ, Mireya (2003). Determinación de la actividad alelopática de extractos vegetales sobre algunos hongos fitopatógenos del suelo. **Centro Agrícola**. Cuba, Vol 30: 64-68 [En línea] [consultado el 10 Enero de 2012]. Disponible en: <http://biblioteca.idict.villaclara.cu>

- /UserFiles/File/revista%20centro%20agricola%20ciap/14.pdf.
- [12] SANTAELLA, Marcela; SUÁREZ, Edna; LÓPEZ, Camilo; GONZÁLEZ, Carolina; MOSQUERA, Gloria; RESTREPO, Silvia; TOHME, Joe; BADILLO, Alfredo; VERDIER, Valerie (2004). Identification of genes in cassava that are differentially expressed during infection with *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis*. **Molecular Plant Pathology** 5(6): 549-558.
- [13] SANTOS, José Higinio (1988). Controle alternativo agroecológico de América Latina. **Revista Cartelera**. Asunción-Paraguay. Nº 6 año 4. 303p.
- [14] STAUFFER Alfredo; ORREGO, Aida; AQUINO, Alicia (2000). Selección de extractos vegetales con efecto fungida y/o bactericida. **Revista de Ciencia y Tecnología**. Vol (1): 27-33.
- [15] STEFANOVA Marusia Nalimova; RIZO, Sandra; CORONADO, María Fernanda (2005). Efecto in vitro de extractos de plantas sobre especies bacterianas del género *Xanthomonas*. **Fitosanidad**. México Vol. 9:49:51 [En línea] [consultado el 21 Diciembre de 2011]. Disponible en: <http://redalyc.uaemex.mx/redalyc/pdf/2091/209116189009.pdf>.
- [16] VERDIER, Valerie; RESTREPO, Silvia; MOSQUERA, Gloria; VÉRONIQUE, Jorge; LÓPEZ, Camilo (2004). Recent progress in the characterization of molecular determinants in the *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* – cassava interactions. **Plant Molecular Biology** 56(4): 573-584.
- [17] VIVEROS, Johana; CASTAÑO, Jairo (2006). Evaluación *in vitro* de extractos vegetales sobre *Mycosphaerella fijiensis morelet*. **Agronomía**. Colombia Vol 14: 37-50. [En línea] consultado el 03 Marzo de 2012. Disponible en: http://agronomia.ucaldas.edu.co/downloads/Agronomia14-1_5.pdf
-