

# EVALUACIÓN DEL EFECTO DE EXTRACTOS VEGETALES PARA EL CONTROL DE ENFERMEDADES POSCOSECHA DEL AGUACATE HASS

Estefanía Quintero-Rodríguez<sup>1</sup>, María Paulina Montoya-Vargas<sup>2</sup>, Lorena María López-Luján<sup>3</sup>, Sebastián Alfonso Guzmán-Cabrera<sup>4</sup>, Olga Lucía Aristizábal-Sepúlveda<sup>5</sup>, Juan Carlos Bedoya-Pérez<sup>6,\*</sup>.

<sup>1</sup> Bióloga, Investigadora, Unidad de Fitosanidad y Control Biológico. Corporación para Investigaciones Biológicas, Medellín, Colombia.

<sup>2</sup> Ingeniera bioquímica, Investigadora, Unidad de Fitosanidad y Control Biológico. Corporación para Investigaciones Biológicas, Medellín, Colombia.

<sup>3</sup> M. Sc. en Biotecnología, Directora de Laboratorios, Safer Agrobiológicos SAS, Medellín, Colombia.

<sup>4</sup> M. Sc. en Entomología, Director técnico de investigación, Safer Agrobiológicos SAS, Medellín, Colombia.

<sup>5</sup> Esp. en Gerencia Agropecuaria y Mercadeo Agropecuario, Analista de registros, Safer Agrobiológicos SAS, Medellín, Colombia.

<sup>6</sup> Ph.D. en Microbiología, Líder Unidad de Fitosanidad y Control Biológico. Corporación para Investigaciones Biológicas, Medellín, Colombia. Docente, Grupo de Investigación en Biociencias. Institución Universitaria Colegio Mayor de Antioquia, Medellín, Colombia.

\* [juan.bedoya@colmayor.edu.co](mailto:juan.bedoya@colmayor.edu.co)

## RESUMEN

En este trabajo se evaluó el potencial de extractos vegetales de la familia Lamiaceae (orégano, tomillo y romero) para controlar enfermedades poscosecha en frutos de aguacate Hass. Inicialmente, se determinó la actividad *in vitro* de extractos vegetales sobre *Colletotrichum gloeosporioides* y *Lasiodiplodia theobromae*. Posteriormente, se evaluó la actividad *in vivo* de formulaciones a base de estos extractos sobre frutos infectados artificialmente. Además, se utilizó *Raphanus sativus* como modelo vegetal para determinar el efecto fitotóxico del formulado con mayor potencial para controlar los fitopatógenos evaluados. Finalmente, el bioformulado seleccionado fue evaluado bajo condiciones reales en planta empacadora. La aplicación del bioformulado generó una protección del 84 y 60% frente a *C. gloeosporioides* y *L. theobromae*, respectivamente. Los resultados indicaron un alto potencial del bioformulado como alternativa para el control de enfermedades poscosecha en aguacate y representa una oportunidad para favorecer la implementación de esquemas de producción limpia en el sector agropecuario.

**Palabras clave:** Antracnosis; hongos fitopatógenos; aguacate; extractos vegetales; control biológico.

Recibido: 3 de mayo de 2024. Aceptado: 7 de julio de 2024

Received: May 3, 2024. Accepted: July 7, 2024

## ASSESSMENT OF PLANT EXTRACTS FOR POSTHARVEST DISEASE CONTROL IN HASS AVOCADO

### ABSTRACT

This study evaluated the potential of plant extracts from the Lamiaceae family (oregano, thyme, and rosemary) for controlling post-harvest diseases in Hass avocado fruits. The *in vitro* activity of plant extracts on *Colletotrichum gloeosporioides* and *Lasiodiplodia theobromae* was determined. Subsequently, the activity of extract formulations was evaluated on artificially infected fruits. Besides, *Raphanus sativus* was used as a plant model to determine the phytotoxic effect of the formulation with the highest potential for controlling the evaluated phytopathogens. Finally, a selected bioformulation was evaluated in a packing plant under real conditions. The bioformulation provided 84 and 60% protection against *C. gloeosporioides* and *L. theobromae*, respectively. The results indicated a high potential for these extracts in the development of commercial products that can contribute to the sustainable growth of the agricultural sector under clean production schemes.

**Keywords:** Anthracnose; phytopathogenic fungi; avocado; vegetable extracts; biologic control.

## 1. INTRODUCCIÓN

El aguacate (*Persea americana* Mill.) es una importante fruta subtropical caracterizada por una cáscara verde y una pulpa cremosa y mantecosa [1]. Este fruto ha tenido una creciente aceptación alrededor del mundo gracias a su contenido nutricional, a las diferentes opciones para su consumo en fresco y procesado, y su uso en la industria cosmética [2]. En 2018, se generaron aproximadamente USD \$5,6 mil millones a partir de 6,4 millones de toneladas de productos de aguacate a nivel mundial y de esto, 2,4 millones de toneladas se destinaron a exportaciones [1]. Lo anterior, ha despertado el interés de países como México, República Dominicana, Perú, Chile y Colombia, los cuales han enfocado sus esfuerzos en aumentar el área cultivada, y la calidad del aguacate obtenido, con el propósito de cubrir la demanda mundial [3].

Entre enero y mayo del 2020, Colombia logró exportar más de 30 mil toneladas de aguacate Hass, lo que representó un incremento de 26,4%, respecto al mismo periodo del año anterior [4]. En este sentido, el rápido aumento de áreas cultivadas con aguacates en Colombia requiere del desarrollo y la implementación de tecnología adecuada para planificar y gestionar los cultivos de manera sostenible [5]. Uno de los desafíos más importantes que enfrenta la industria del aguacate es el manejo de enfermedades poscosecha como la antracnosis, la cual es causada por hongos del género *Colletotrichum* sp. y *Dothiorella aromática*, y la pudrición del extremo del tallo causada principalmente por *Thyronectria pseudotrichia*, *C. gloeosporioides*, *D. aromática*, *Phomopsis perseae* y *L. theobromae*. La antracnosis y la pudrición del extremo del tallo tienen porcentajes de incidencia del 29 y 15%, respectivamente, generando rechazos económicamente representativos en el mercado de exportación [6].

El control de estas enfermedades poscosecha se ha venido realizando mediante aplicación de fungicidas químicos como benomilo, mancozeb, carbendazim y tiabendazol [7]. Sudáfrica y otros países exportadores de aguacate aplican imidazol (Procloraz®) como fungicida comercial en la empacadora para el manejo del fruto durante el almacenamiento y el transporte [8]. Sin embargo, el uso de estos productos se ha visto cada vez más limitado debido a la generación de patógenos resistentes y al efecto adverso que pueden presentar para la salud humana y el medio ambiente [9]. Además, existen exigencias fitosanitarias y aduaneras en los países extranjeros, focos de exportación, que obligan a los productores colombianos a migrar hacia nuevos métodos de manejo poscosecha que, incluyen el control del ambiente de almacenamiento y el uso de nuevos compuestos para el control de las enfermedades del aguacate [10]. Además, las investigaciones sobre identificación de enfermedades y trastornos en la etapa de poscosecha en frutos de aguacate cv. Hass en Colombia son muy limitadas y pueden presentar un alto impacto económico a nivel de finca, empaque y comercialización afectando negativamente la sostenibilidad de la industria [11]. Como resultado, reconocer y controlar las pudriciones poscosecha durante el almacenamiento del aguacate mediante la aplicación de productos no peligrosos es una alternativa ambientalmente segura y más amigable para el consumidor que los fungicidas químicos.

Teniendo en cuenta la problemática económica y ambiental que representa un control efectivo de enfermedades poscosecha, y el uso de fungicidas como principal estrategia de protección de frutos tipo exportación, en 2018, se inició un proceso de investigación orientado a desarrollar una alternativa de control acorde a las necesidades del mercado. Este proceso permitió identificar plantas aromáticas de la familia Lamiaceae capaces de producir sustancias con potencial para inhibir el crecimiento de fitopatógenos en frutos de aguacate Hass tipo exportación. Adicionalmente, fueron desarrollados métodos adecuados para la obtención eficiente de extractos a partir de las especies seleccionadas. Los resultados obtenidos fueron considerados promisorios e incentivaron la idea de comercializar un bioproducto eficaz en el control de enfermedades poscosecha, ambientalmente amigable y de bajo riesgo toxicológico. Para continuar con este proceso, con este trabajo se desarrolló y evaluó la eficacia de un bioformulado a base de extractos vegetales de la familia Lamiaceae como alternativa para el control de enfermedades poscosecha en frutos de aguacate Hass.

## 2. MATERIALES Y MÉTODOS

### 2.1 Medios de cultivo y microorganismos

Los medios de cultivo usados para la activación y el repique de los microorganismos fueron Agar Papa Dextrosa (PDA, Merck®) y Caldo Papa Dextrosa (PDB, Merck®). Se reactivaron los hongos fitopatógenos *Colletotrichum gloeosporoides* y *Lasiodiplodia theobromae* pertenecientes a la colección Microcib#223 de la Corporación para Investigaciones Biológicas – CIB, y que fueron aislados directamente de frutos de aguacate en campo. Estos se reactivaron en PDA, se purificaron y se conservaron a 25°C por 6 días para luego, ser usados en los ensayos realizados en esta investigación y ser conservados en agua destilada estéril.

### 2.2 Obtención de extractos y bioformulados

Para la obtención de los extractos y bioformulados, se emplearon plantas de la familia Lamiaceae (romero, tomillo y orégano) suministradas por proveedores locales de Medellín, Antioquia. Se recolectaron muestras de hojas frescas de las plantas aromáticas, que habían sido cultivadas en condiciones de campo abierto. Luego, la extracción se realizó por el método Soxhlet, empleando etanol al 96%. Se manejaron 16 ciclos de extracción y posteriormente se recuperó el solvente. Cada lote de extracción se realizó con 2 kg de material de cada planta por separado. Todos los montajes se realizaron por triplicado. Se tomaron datos de rendimientos de extracto en porcentajes y se registraron algunas propiedades del material extraído como olor y color. Para la preparación de dos formulaciones W/O a base de los extractos se utilizó un procedimiento que es propiedad y se encuentra protegido por la empresa SAFER AGROBIOLÓGICOS SAS.

### 2.3 Pruebas de actividad de extractos sobre fitopatógenos de interés

Para determinar el efecto inhibitorio de formulaciones a base de romero, tomillo, orégano o mezcla de ellos, los fitopatógenos fueron sembrados en cajas de petri que contenían PDA suplementado con 2 mL/L del formulado a evaluar, por triplicado. La concentración de suplementación fue seleccionada de acuerdo con revisión bibliográfica previamente realizada [12]. En el centro de la caja se sembró un fragmento de 5 mm de cada hongo. Como control absoluto se utilizó agua estéril en lugar del extracto vegetal. Además, se empleó Prochloraz (Sportak®) como tratamiento químico (control positivo). Una vez el control de cada hongo colonizó por completo la caja de petri, se determinó el grado de inhibición que generó cada bioformulado midiendo el diámetro de la colonia del patógeno. El porcentaje de inhibición del crecimiento micelial se calculó como:  $PI = ((Dc - D \text{ tratamiento}) / D \text{ control}) * 100$ . Siendo Dc: diámetro micelial en el control, Dt: diámetro micelial en el tratamiento. El bioformulado que presentó el mayor porcentaje de inhibición de los fitopatógenos, fue seleccionado para las pruebas subsecuentes.

### 2.4 Pruebas de eficacia de los extractos en condiciones *in vivo*

Para las pruebas de eficacia de los extractos en condiciones *in vivo* fueron seleccionados frutos de aguacate Hass de apariencia sana y en madurez fisiológica. Los frutos fueron lavados con jabón desengrasante, lavados tres veces con agua de grifo, y sumergidos en hipoclorito de sodio al 1% durante un minuto. Por último, se lavaron con agua destilada estéril y se dejaron secar a temperatura ambiente. Adicionalmente, se prepararon suspensiones a  $10^4$  esporas/mL de *C. gloeosporoides* y *L. theobromae* en una solución de Tween 80® al 0,05%. Posteriormente, para la inoculación de los frutos se empleó la metodología de Xoca et al. (2019), con modificaciones. Se realizó una lesión en la superficie de las dos caras laterales de los frutos empleando un asa de punta. La profundidad de la lesión fue de 0,5 mm. Cada fruto fue tratado en una de las caras con el extracto a concentraciones de 1, 2 y 4 mL/L o con fungicida Prochloraz (20µL). La otra cara fue tratada solo con agua estéril. Los frutos se dejaron secar durante una hora a temperatura ambiente, y posteriormente, fueron inoculados en ambas caras con el patógeno seleccionado (20µL). Para el control general del ensayo, se usaron 10 frutos, los cuales se hirieron por ambos lados y no recibieron ningún inóculo. Cuando los aguacates alcanzaron la madurez de consumo, se cortaron longitudinalmente para medir el diámetro de las lesiones ocasionadas por los fitopatógenos. Luego, se determinó el porcentaje de protección generado por la aplicación de los extractos vegetales frente al desarrollo de la enfermedad ocasionada por los patógenos inoculados; comparando el área de la lesión en los frutos tratados con respecto al control, según la escala de afectación de frutos definida por la empresa. La concentración de extracto que presentó el mayor porcentaje de protección fue seleccionada para las evaluaciones en campo [13].

### 2.5 Evaluación protectora del bioformulado en frutos de aguacate Hass en campo

Los experimentos para evaluar la actividad protectora del bioformulado en frutos de aguacate Hass en campo, se realizaron en una finca productora y en una planta empacadora de aguacates para exportación ubicadas en el municipio de Guarne, Antioquia. Los frutos cosechados en campo fueron divididos en tres grupos de 80

unidades (cuatro réplicas de 20 unidades cada una). Posteriormente, cada grupo por separado fue inmerso durante 5 min en una de tres soluciones: bioformulado (4 mL/L), Tiabendazol® (2 mL/L) o agua. En general, los fungicidas tiabendazol, estrobilurina y procloraz son eficientes en el control de pudriciones poscosecha. Sin embargo, debido a las crecientes restricciones en el uso de fungicidas en poscosecha, algunos países no permiten el tratamiento poscosecha con procloraz, por lo que se optó por emplear el tiabendazol en las pruebas de campo [14]. Al llegar a planta empacadora, los frutos se sometieron a un proceso de desinfección por aspersión con ácido peracético a 80 ppm y luego se realizó nuevamente el procedimiento realizado en finca. Los frutos fueron almacenados en cajas de exportación con 20 unidades cada uno y almacenados durante tres semanas en cadena de frío a 7°C y 96% de humedad relativa. Luego, fueron mantenidos por una semana a temperatura ambiente hasta alcanzar madurez de consumo. Finalmente, se determinó la severidad de enfermedades en cada fruto. La severidad se determinó mediante la medición del área afectación de los frutos en pulpa y pedúnculo según la escala definida por la empresa.

## 2.6 Pruebas de toxicidad de los extractos vegetales sobre un modelo vegetal

Para determinar la toxicidad de los extractos vegetales se empleó el modelo de rábano (*Raphanus sativus*), que se utiliza ampliamente como método de prueba biológica para plantas terrestres expuestas a contaminantes en el suelo según la Organización Canadiense de Medio Ambiente y Cambio Climático. Además, es muy sensible a los contaminantes y posee un rápido crecimiento. Las semillas de rábano fueron desinfectadas con una solución jabonosa al 1% e hipoclorito de sodio al 0,5% durante 30 segundos. Posteriormente, fueron inmersas en etanol al 70% durante 30 segundos y lavadas con agua destilada estéril. Cajas de Petri conteniendo 20 semillas sobre un papel filtro fueron asperjadas con 3 mL de bioformulado a diferentes concentraciones (0.5, 1, 2, 4 ó 8 mL/L) o agua estéril (control). Cada tratamiento se realizó por cuadruplicado. Todas las cajas se incubaron a 26°C bajo condiciones de oscuridad. Luego de 5 días se calculó el porcentaje de germinación, el estado de los brotes y la longitud de la raíz de las semillas [15].

## 2.7 Análisis estadístico

Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) con un nivel de significancia del 5% y pruebas de comparación múltiple empleando el test HSD de Tukey para determinar las diferencias entre tratamientos. Los análisis estadísticos se realizaron con el software RStudio (R Core Team, 2014).

# 3. RESULTADOS

## 3.1 Obtención de extractos y bioformulados

Todos los extractos obtenidos por el método Soxhlet presentaron una coloración verde traslúcida y su olor fue característico al de estas plantas aromáticas. Los rendimientos de extracción a partir de material vegetal (mL extracto/kg hojas) presentados en la Tabla 1, no tuvieron diferencias significativas entre sí. Respecto a la etapa de formulación, todos los bioformulados obtenidos utilizando un único tensoactivo o en combinación mostraron ser estables en el tiempo (datos no mostrados, secreto empresarial).

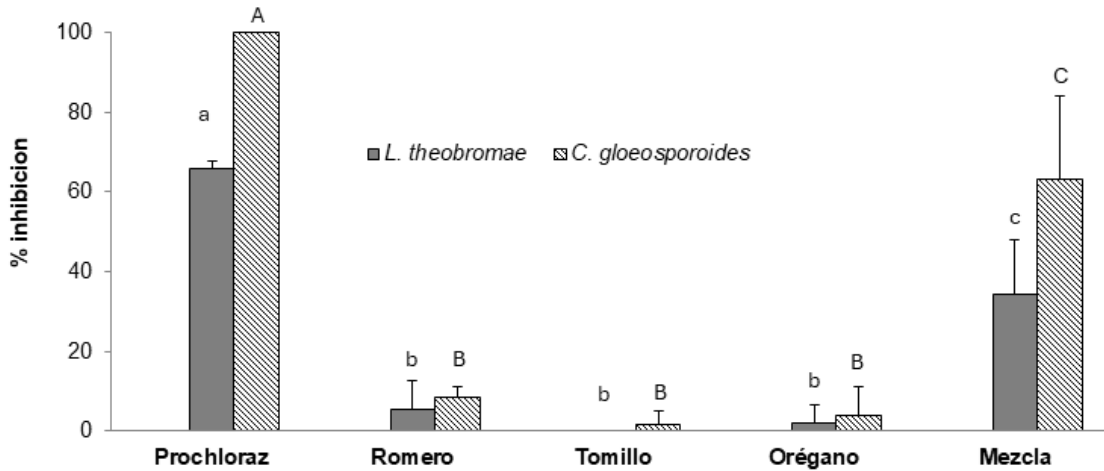
**Tabla 1.** Rendimiento de los extractos obtenidos a partir de material vegetal.

Material vegetal	Rendimiento (mL/Kg)
Romero	2.10 ± 0.5
Tomillo	1.97 ± 0.3
Orégano	1.98 ± 0.5

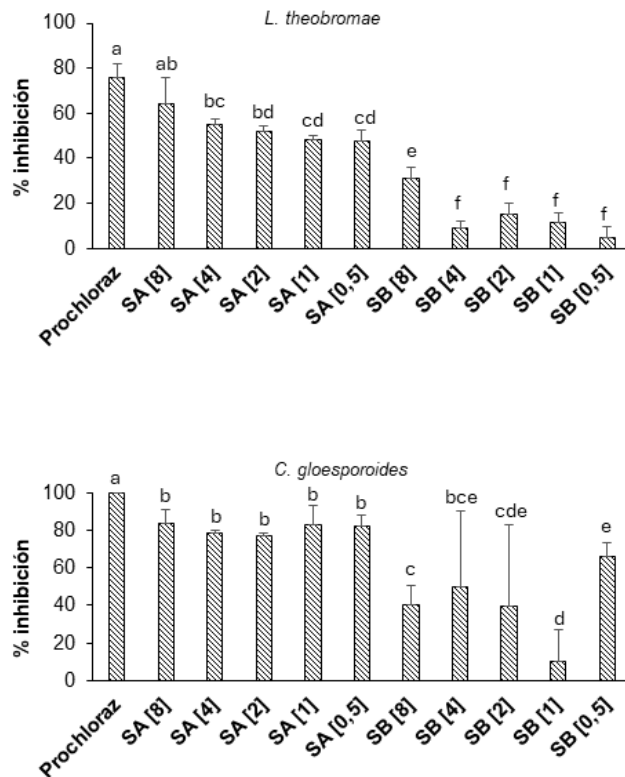
## 3.2 Pruebas de actividad de extractos sobre fitopatógenos de interés

El tratamiento con procloraz mostró ser el mejor para el control de ambos fitopatógenos, siendo más efectivo en el control de *C. gloeosporioides* (ver Figura 1). la formulación a base de la mezcla de los extractos mostró inhibir el crecimiento de *L. theobromae* y *C. gloeosporioides* en 34 y 63%, respectivamente; mientras que las formulaciones a base de una única planta aromática lograron inhibiciones por debajo del 10% en todos los casos. De ahí, dos bioformulaciones a base de la mezcla de extractos denominadas SA y SB fueron utilizadas en los experimentos posteriores.

La capacidad de SA y SB para inhibir los fitopatógenos se evaluó a diferentes concentraciones con el fin de determinar una dosis adecuada para los experimentos *in vivo* (ver Figura 2). El tratamiento químico inhibió el desarrollo de *L. theobromae* y *C. gloeosporioides* en un 76 y 100%, respectivamente. La formulación SA obtuvo porcentajes de inhibición que oscilaron entre el 48 y 64% para *L. theobromae* y entre el 77 y el 84% para *C. gloeosporioides*. Por su parte, la formulación SB presentó porcentajes de inhibición que oscilaron entre el 5 y 31% para *L. theobromae* y entre el 11 y el 66% para *C. gloeosporioides*.



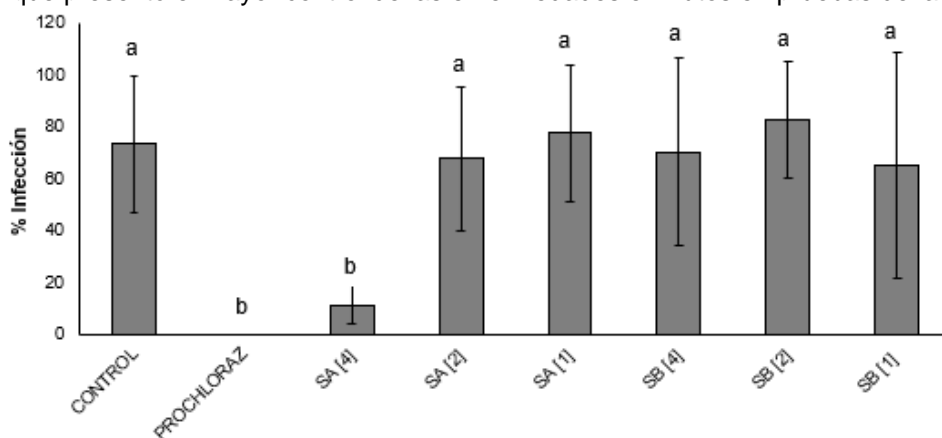
**Figura 1.** Porcentajes de inhibición de las diferentes formulaciones a base de extractos vegetales y prochloraz. Letras minúsculas y mayúsculas indican diferencias ( $p < 0.05$ ) entre tratamientos para *L. theobromae* y *C. gloeosporioides*, respectivamente.



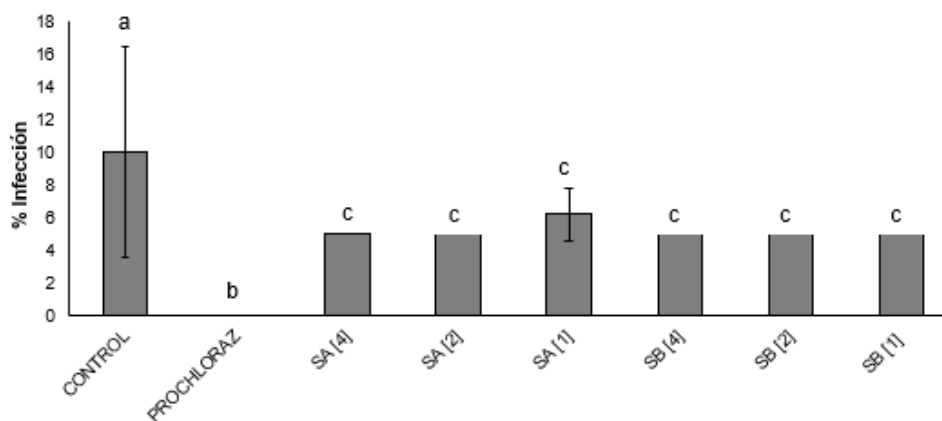
**Figura 2.** Porcentaje de inhibición *in vitro* de diferentes formulaciones sobre patógenos poscosecha. El valor entre corchetes indica la concentración evaluada en mL/L. Letras distintas indican diferencias estadísticas significativas entre tratamientos ( $p < 0.05$ ).

### 3.3 Pruebas de eficacia *in vivo*

En general, SA y SB permitieron disminuir la afectación ocasionada por los fitopatógenos en los frutos (ver Figuras 3 y 4). El Prochloraz inhibió por completo el desarrollo de la enfermedad en pulpa y pedúnculo. Además, los resultados evidenciaron la acción de los formulados como fungicidas naturales frente a los patógenos inoculados. Con respecto al control sin tratamiento, el bioformulado SA a una concentración de 4 mL/L permitió reducir el avance de la enfermedad hasta en un 84 % y 50% para *L. theobromae* y *C. gloeosporioides*, respectivamente. Para SB a 4mL/L estas reducciones fueron del 5% y 50% para *L. theobromae* y *C. gloeosporioides*, respectivamente. Para las demás concentraciones evaluadas los porcentajes de infección fueron muy similares a los del control, como se muestra en las figuras 3 y 4. Considerando estos resultados, para las evaluaciones en campo se seleccionó el bioformulado SA a la concentración de 4mL/L, correspondiente al tratamiento que presentó el mayor control de las enfermedades en frutos en pruebas de laboratorio.



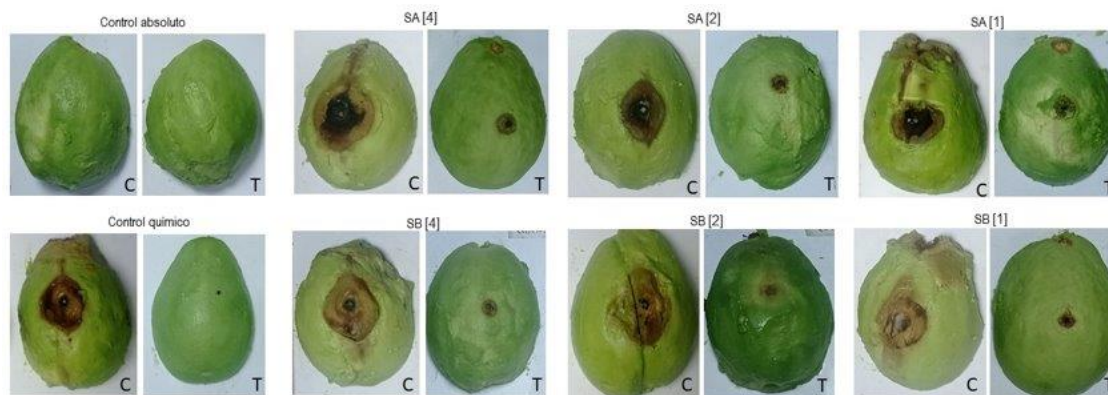
**Figura 3.** Porcentaje de infección por *L. theobromae* en frutos de aguacate tratados con las formulaciones SA y SB a diferentes concentraciones. El valor entre corchetes indica la concentración evaluada en mL/L. Letras distintas indican diferencias estadísticas significativas entre tratamientos ( $p < 0.05$ ).



**Figura 4.** Porcentaje de infección por *C. gloeosporioides* en frutos de aguacate tratados con las formulaciones SA y SB a diferentes concentraciones. El valor entre corchetes indica la concentración evaluada en mL/L. Letras distintas indican diferencias estadísticas significativas entre tratamientos ( $p < 0.05$ ).



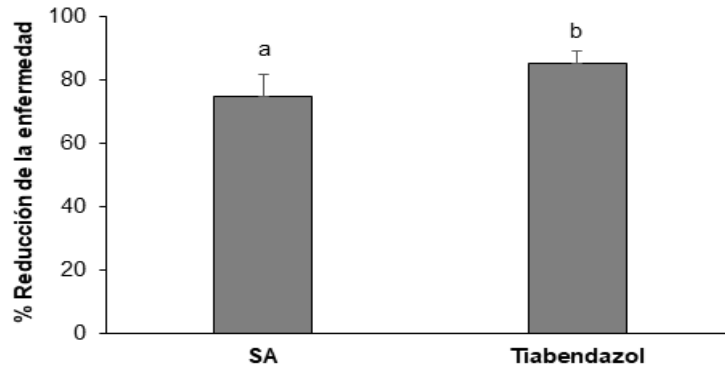
**Figura 5.** Frutos infectados con *L. theobromae* y tratados con bioformulaciones SA y SB. C: control sin tratamiento, T: tratamiento. Control químico: Prochloraz. Control absoluto: frutos no infectados.



**Figura 6.** Frutos infectados con *C. gloeosporioides* y tratados con bioformulaciones SA y SB. Se conserva la notación de la figura 3.

### 3.4 Evaluación protectora del formulado en frutos de aguacate Hass en campo

De acuerdo con los resultados anteriores (Figuras 3, 4, 5 y 6) SA a 4 mL/L presentó los mayores porcentajes de inhibición frente a los patógenos evaluados. Por tanto, esta formulación fue seleccionada como base para realizar la prueba de simulación en planta empacadora. La severidad de la pudrición de pulpa generada por *C. gloeosporioides* fue reducida en un 74,5 y 84,2% con respecto al área afectada en los frutos sin tratamiento al aplicar SA y tiabendazol, respectivamente (Figura 7). Aunque hubo diferencias significativas entre el tratamiento químico (tiabendazol) y el tratamiento biológico (SA), esta diferencia fue solo 9,7% menor al aplicar SA. En ninguno de los casos (control y tratamiento) hubo síntomas de enfermedad ocasionada por *L. theobromae*.



**Figura 7.** Reducción en el avance de la enfermedad ocasionada por *C. gloeosporioides* en frutos de aguacate simulando proceso de planta empacadora. Tratamiento biológico (SA), tratamiento químico (Tiabendazol). Letras distintas indican diferencias estadísticas significativas entre tratamientos ( $p < 0.05$ ).

La reducción de la zona afectada en los frutos es evidente al aplicar SA y el tratamiento químico (Figura 8), lo que convierte a SA en una formulación con alto potencial para ser comercializado como producto biológico con capacidad fungicida o fungistática.

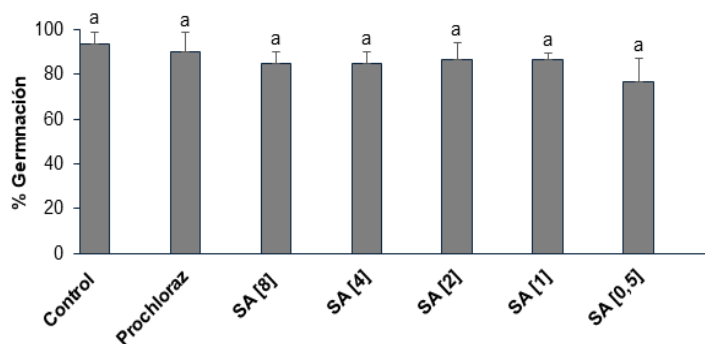


**Figura 8.** Registro fotográfico de los síntomas de enfermedad ocasionada por *C. gloeosporioides* en frutos de aguacate simulando proceso de planta empacadora. Tratamiento biológico (SA), tratamiento químico (Tiabendazol).

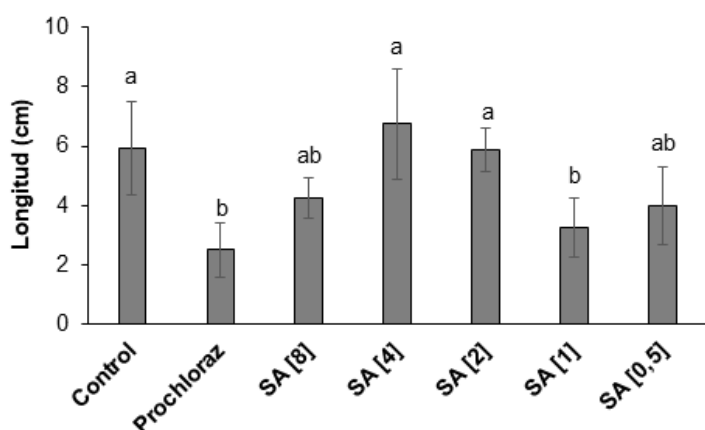
### 3.5 Pruebas de toxicidad de los extractos vegetales sobre un modelo vegetal

El crecimiento de raíces y la germinación de las semillas no se vieron afectados por la aplicación del formulado SA (Figuras 9 y 10). Las plántulas no presentaron una oxidación o clorosis en sus raíces, así como tampoco se observó daño en sus cotiledones, lo cual puede deberse a que los extractos no interfirieron en los procesos fisiológicos de la planta durante su desarrollo en las concentraciones evaluadas. En todos los casos, la germinación fue superior al 85% y no se encontraron diferencias estadísticas significativas. Los resultados indican que la actividad fitotóxica del bioformulado en el modelo empleado es baja, por lo que este puede ser utilizado a las concentraciones recomendadas ( $\leq 4$  mL/L). En comparación con el tratamiento químico a base de tiabendazol, la formulación SA a 4 y 2 mL/L mostró afectar en menor medida el proceso de alargamiento radicular (Figura 10).

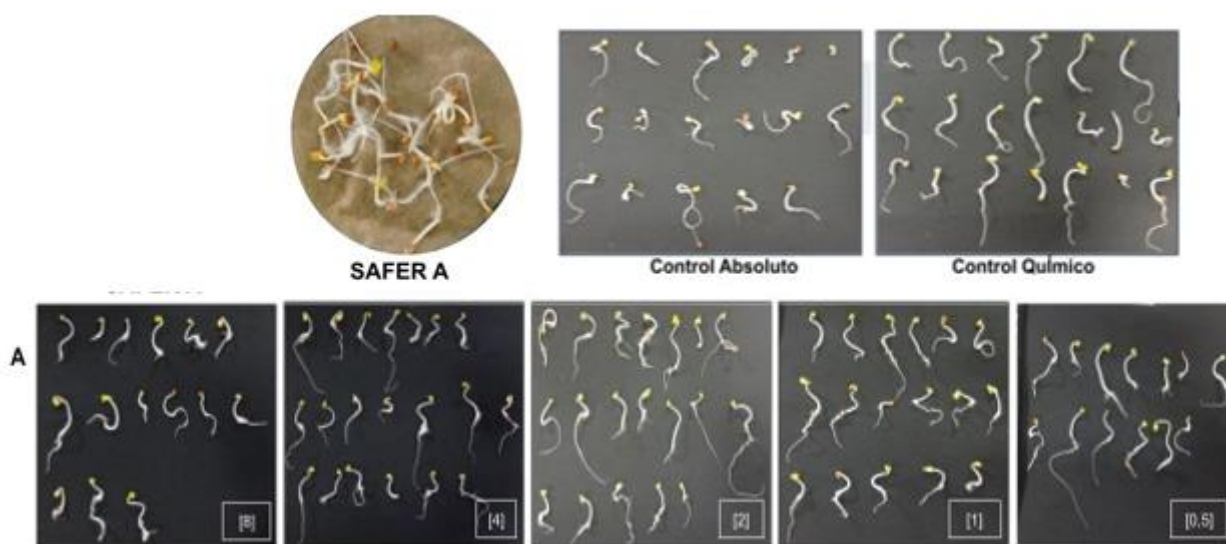




**Figura 9.** Porcentaje de germinación de semillas de rábano tratadas con SA. El valor entre corchetes indica la concentración evaluada en mL/L. Letras distintas indican diferencias estadísticas significativas entre tratamientos ( $p < 0.05$ ).



**Figura 10.** Longitud de raíces de rábano tratadas con SA. El valor entre corchetes indica la concentración evaluada en mL/L. Letras distintas indican diferencias estadísticas significativas entre tratamientos ( $p < 0.05$ ).



**Figura 11.** Pruebas de fitotoxicidad del bioformulado en *Raphanus sativus*. **A** Plántulas germinadas bajo la aplicación de Safergreen A a diferentes concentraciones.

#### 4. DISCUSIÓN

*Colletotrichum gloeosporioides* causante de la antracnosis es uno de los fitopatógenos más comunes y de mayor distribución en el mundo. La antracnosis es considerada la enfermedad más importante en frutos de regiones tropicales y subtropicales [16]. Por su parte, *Lasiodiplodia* sp. se ha relacionado con la aparición de lesiones o chancros en las ramas del árbol de aguacate con presencia de exudaciones blanquecinas que, además, pueden ocasionar pudrición del fruto [17]. Los extractos de plantas son productos nuevos, naturales y multi-compuestos que podrían utilizarse para el biocontrol de estos fitopatógenos. Poseen propiedades antifúngicas, antimicrobianas, antiparasitarias, antiprotozoarias, antioxidantes, medicinales, aromáticas y antiinflamatorias. Este grupo de productos naturales tiene el potencial de convertirse en una nueva generación de bioproductos aptos para su uso en agricultura sostenible [18]. Así, se ha reportado que los extractos vegetales pueden interferir en los complejos de la cadena respiratoria mitocondrial, alterar la fosforilación oxidativa e inducir disfunción mitocondrial del hongo, lo que lleva a un desequilibrio en la actividad metabólica celular, provocando una caída en la biodisponibilidad de energía al reducir la fuerza motriz de los protones y las enzimas de síntesis de ATP. En consecuencia, los extractos vegetales conducen a la muerte celular y/o a la inhibición de la esporulación y germinación de los microorganismos, por lo que pueden representar uno de los productos naturales más prometedores para la inhibición de hongos fitopatógenos [19].

Se han utilizado diferentes técnicas de extracción para obtener estas sustancias valiosas, como hidrodestilación, Soxhlet y ultrasonido. Dentro de estos, el método Soxhlet proporcionó un buen rendimiento de extracción, lo que puede atribuirse al largo tiempo de extracción del método, las temperaturas más altas exigidas para el proceso y el hecho de que el solvente fresco entra en contacto repetidamente con la muestra, lo que resulta en tasas de transferencia de masa más altas [20].

Así, los extractos de plantas se describen como productos derivados del proceso de extracción utilizando un solvente apropiado en una planta o una porción de una planta, generalmente en su forma seca y molida. A menudo comprenden una amplia gama de compuestos activos que funcionan en colaboración para suprimir el crecimiento de patógenos. Dado que cada componente actúa a través de un mecanismo distinto, la utilización de estos extractos podría reducir la probabilidad de que los patógenos desarrollen resistencia a los compuestos activos [21]. En este sentido, los resultados de este trabajo indican que los extractos vegetales a base de plantas aromáticas de la familia Lamiaceae inhiben el crecimiento micelial de los fitopatógenos, convirtiéndose en candidatos para el desarrollo de productos para el control biológico de enfermedades poscosecha del aguacate. La máxima reducción del crecimiento micelial por la aplicación del extracto de la mezcla de las plantas puede deberse a la presencia de compuestos antimicóticos en los extractos [22].

A nivel molecular, varios investigadores han reportado la presencia de varias clases de compuestos fenólicos como principales moléculas activas. Los compuestos fenólicos se han estudiado ampliamente como un método alternativo de control poscosecha y ofrecen una valiosa fuente de biocidas y conservantes. Numerosas investigaciones han demostrado la eficacia antimicrobiana de categorías específicas de compuestos fenólicos. Entre ellos se incluyen los derivados del ácido hidroxibenzoico, el ácido cumárico y los derivados del ácido cafeico, así como los flavonoides y las cumarinas. Además, la catequina, la epicatequina, las proantocianidinas y los taninos también han mostrado notables propiedades antimicrobianas [21].

La acción fungicida de los bioformulados frente a los patógenos evaluados, aunque no iguala el efecto inhibitorio de los productos químicos (inhibiciones del 100%), permitió disminuir los daños ocasionados por los patógenos entre 50 y 85% para *Lasiodiplodia* sp. y *C. gloeosporioides*. Estos resultados son comparables con los reportados con Sarkhosh et.al (2017) quienes encontraron que compuestos derivados del tomillo exhibieron una fuerte actividad antifúngica, eliminando totalmente la descomposición causada por *C. gloeosporioides* a una dosis de aplicación de 2 mL/L [23]. Específicamente, los monoterpenos fenólicos que se encuentran en el tomillo, el orégano y otras especies de la familia Lamiaceae han sido muy utilizados para diferentes aplicaciones; pues, los extractos de plantas que contienen timol o carvacrol poseen propiedades antibacterianas, antiespasmódicas y antioxidante [24]. El timol es un fenol monoterpénico natural cuya actividad antimicrobiana contra microorganismos patógenos ha sido ampliamente documentada. El carvacrol, también conocido como cimofenol (2-metil-5-propan-2-ilfenol) ha evidenciado efecto antifúngico contra diversos patógenos de descomposición poscosecha, como *Pilidiella granati*, *Botrytis cinerea*, *Fusarium verticillioides* y *Aspergillus versatilis*, *Penicillium verrucosum*, *Geotrichum citri-aurantii* y *Alternaria alternata* [25]. Es probable que los efectos de control ejercidos sobre *L. theobromae* y *C. gloeosporioides* encontrados en este estudio estén mediados por compuestos de naturaleza similar.

La enfermedad poscosecha de prevalencia en esta investigación a escala de campo fue la pudrición de pulpa (“*Body rot*”) y no se evidenció pudrición en pedúnculo (“*Stem-end Rot*”). Esto puede deberse a que los protocolos establecidos por la planta empacadora para la manipulación de frutos durante el proceso de cosecha y almacenamiento son efectivos. Estos protocolos evitan el maltrato físico, el desprendimiento del pedúnculo en etapa de cosecha y el contacto con contaminantes del suelo, previniendo heridas y futuras enfermedades poscosecha. Igualmente, las condiciones de almacenamiento y maduración implementadas por la planta empacadora reducen significativa las probabilidades de desarrollo de enfermedades. Por último, con respecto a la toxicidad de formulaciones de origen vegetal que son utilizadas para el control de patógenos poscosecha, la Administración de Medicamentos y Alimentos de los Estados Unidos (FDA) no ha restringido el uso de extractos vegetales e incluso se contempla su uso en aplicaciones alimentarias. Los resultados obtenidos en este trabajo son consecuentes con esta afirmación ya que, a las concentraciones evaluadas, la formulación SA no presentó ningún efecto fitotóxico en plantas de Rábano, con un alto porcentaje de germinación en todos los tratamientos, y longitudes radiculares comparables con el control no tratado.

## 5. CONCLUSIONES

El presente estudio representa un avance hacia la producción de fungicidas de origen vegetal ambientalmente aceptables para controlar las enfermedades poscosecha del aguacate ocasionadas por *L. theobromae* y *C. gloeosporioides*. El extracto SA a una concentración de 4mL/L mostró una alta eficiencia como antifúngico contra el crecimiento de los fitopatógenos en experimentos de simulación en planta empacadora. Se considera que el uso del extracto de la mezcla de plantas de la familia Lauraceae podría proporcionar un medio de bajo costo y respetuoso con el medio ambiente para preservar los frutos en la cadena de exportación. Además, las plantas empleadas están fácilmente disponibles y son rentables, lo que hace que sea fácil incorporarlas a los sistemas de producción agrícola. En este sentido, el bioformulado desarrollado se encuentra actualmente en proceso de registro ante el Instituto Colombiano de Agricultura ICA. Las investigaciones futuras permitirán dilucidar la identidad de los compuestos activos responsables de los efectos antifúngicos del extracto, permitiendo una mejor comprensión de su modo de acción, para así continuar en la optimización del bioproducto obtenido.

## 6. AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al Ministerio de Ciencia Tecnología e Innovación por el financiamiento de este proyecto.

## 7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] Munhuweyi, K., Mpai, S., y Sivakumar, D. (2020). Extension of avocado fruit postharvest quality using non-chemical treatments. *Agronomy*, 10(2), 212. <https://doi.org/10.3390/agronomy10020212>
- [2] Alarcón, J., Arévalo, E., Díaz, A., Galindo, J., y González, M. (2012). Manejo fitosanitario del cultivo del aguacate Hass (*Persea americana* Mill). Recuperado de <http://www.ica.gov.co/getattachment/4b5b9b6f-ecfc-46e1-b9ca-b35cc1cefee2/-nbsp>.
- [3] Arias, F., Montoya, C., y Velásquez, O. (2018). Dinámica del mercado mundial de aguacate. *Revista Virtual Universidad Católica del Norte*, (55), 22-35. DOI: 10.35575/rvucn.n55a2
- [4] STA, Por Forbes. (2020). Aguacate Hass colombiano le daría más de US \$ 100 millones al país en exportaciones. Recuperado de: <https://forbes.co/2020/07/08/negocios/aguacate-hass-colombiano-le-daria-mas-de-us100-millones-al-pais-en-exportaciones/>.
- [5] Ramírez-Gil, J. G., y Morales-Osorio, J. G. (2020). Integrated proposal for management of root rot caused by *Phytophthora cinnamomi* in avocado cv. Hass crops. *Crop protection*, 137, 105271. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2020.105271>.

- [6] Maftoonazad, N., Ramaswamy, H. S., Moalemiyan, M., y Kushalappa, A. C. (2007). Effect of pectin-based edible emulsion coating on changes in quality of avocado exposed to *Lasiodiplodia theobromae* infection. *Carbohydrate polymers*, 68(2), 341-349. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2006.11.020>
- [7] Korsten, L., De Villiers, E. E., De Jager, E. S., Cook, D. N., y Kotzé, J. M. (1991). Biological control of avocado postharvest diseases. *South African Avocado Growers' Association Yearbook*, 14, 57-59.
- [8] Sarkhosh, A., Vargas, A. I., Schaffer, B., Palmateer, A. J., Lopez, P., Soleymani, A., y Farzaneh, M. (2017). Postharvest management of anthracnose in avocado (*Persea americana* Mill.) fruit with plant-extracted oils. *Food packaging and shelf life*, 12, 16-22. <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2017.02.001>
- [9] Obianom, C., Romanazzi, G., y Sivakumar, D. (2019). Effects of chitosan treatment on avocado postharvest diseases and expression of phenylalanine ammonia-lyase, chitinase and lipoxygenase genes. *Postharvest Biology and Technology*, 147, 214-221. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2018.10.004>
- [10] Coates, L., Willingham, S., Pegg, K., Cooke, T., Dean, J., y Langdon, P. (2001). Field and postharvest management of avocado fruit diseases. In *AUSTRALIAN AND NEW ZEALAND AVOCADO GROWERS' CONFERENCE* (Vol. 1.)
- [11] Ramírez-Gil, J. G., Henao-Rojas, J. C., y Morales-Osorio, J. G. (2021). Postharvest diseases and disorders in avocado cv. Hass and their relationship to preharvest management practices. *Heliyon*, 7(1). <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e05905>.
- [12] Šernaitė, L., Rasiukevičiūtė, N., & Valiuškaitė, A. (2020). Application of plant extracts to control postharvest gray mold and susceptibility of apple fruits to *B. cinerea* from different plant hosts. *Foods*, 9(10), 1430. <https://doi.org/10.3390/foods9101430>.
- [13] Xoca-Orozco, L. A., Aguilera-Aguirre, S., López-García, U. M., Gutiérrez-Martínez, Porfirio, y Chacon-Lopez, A. (2019). Effect of chitosan on the in vitro control of *Colletotrichum* sp., and its influence on postharvest quality in Hass avocado fruits. *Revista Bio Ciencias*, 5, 1-20. DOI:10.15741/revbio.05.01.13.
- [14] Fischer, I. H., Moraes, M. F. D., Palharini, M. C. D. A., Fileti, M. D. S., Cruz, J. C. S., y Firmino, A. C. (2018). Effect of conventional and alternative products on postharvest disease control in avocados. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 40, e-408. <https://doi.org/10.1590/0100-29452018408>.
- [15] Granada, D., Lopez-Lujan, L., Ramirez-Restrepo, S., Morales, J., Pelaez-Jaramillo, C., Andrade, G., y Bedoya-Pérez, J. C. (2020). Bacterial extracts and bioformulates as a promising control of fruit body rot and root rot in avocado cv. Hass. *Journal of Integrative Agriculture*, 19(3), 748-758. [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(19\)62720-6](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(19)62720-6).
- [16] Alama, I., Maldonado, E., y Gálvez, E. R. (2006). *Lasiodiplodia theobromae* afectando el cultivo de palto (*Persea americana*) en las condiciones de Piura-Perú. *Universalía*, 11(2), 4-13.
- [17] da Costa Gonçalves, D., Ribeiro, W. R., Goncalves, D. C., Menini, L., y Costa, H. (2021). Recent advances and future perspective of essential oils in control *Colletotrichum* spp.: A sustainable alternative in postharvest treatment of fruits. *Food Research International*, 150, 110758. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2021.110758>.
- [18] Godlewska, K., Ronga, D., y Michalak, I. (2021). Plant extracts-importance in sustainable agriculture. *Italian Journal of Agronomy*, 16(2). DOI:10.4081/ija.2021.1851.
- [19] El Khetabi, A., Lahlali, R., Ezrari, S., Radouane, N., Lyoufsi, N., Banani, H., ... y Barka, E. A. (2022). Role of plant extracts and essential oils in fighting against postharvest fruit pathogens and extending fruit shelf life: A review. *Trends in Food Science and Technology*, 120, 402-417. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2022.01.009>.
- [20] Bontzolis, C. D., Dimitrellou, D., Plioni, I., Kandylis, P., Soupioni, M., Koutinas, A. A., y Kanellaki, M. (2024). Effect of solvents on aniseed aerial plant extraction using soxhlet and ultrasound methods, regarding antimicrobial activity and total phenolic content. *Food Chemistry Advances*, 4, 100609. <https://doi.org/10.1016/j.focha.2024.100609>.

- [21] Khadiri, M., Boubaker, H., Lahmamsi, H., Taoussi, M., Ezzougari, R., Askarne, L., ... y Lahlali, R. (2023). Challenges in apple preservation: Fungicide resistance and emerging biocontrols. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 102205. <https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2023.102205>.
- [22] Muthukumar, A., Eswaran, A., Nakkeeran, S., y Sangeetha, G. (2010). Efficacy of plant extracts and biocontrol agents against *Pythium aphanidermatum* inciting chilli damping-off. *Crop Protection*, 29(12), 1483-1488. DOI:10.1016/j.cropro.2010.08.009.
- [23] Ruiz-Sánchez, E., Mejía-Bautista, M. Á., Cristóbal-Alejo, J., Valencia-Botín, A., y Reyes-Ramírez, A. (2014). Actividad antagonista de filtrados de *Bacillus subtilis* contra *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.). *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 5(7), 1325-1332.
- [24] Krause, S. T., Liao, P., Crocoll, C., Boachon, B., Förster, C., Leidecker, F., ... y Degenhardt, J. (2021). The biosynthesis of thymol, carvacrol, and thymohydroquinone in Lamiaceae proceeds via cytochrome P450s and a short-chain dehydrogenase. *Proceedings of the national academy of sciences*, 118(52). <https://doi.org/10.1073/pnas.2110092118>.
- [25] Yang, X., Deng, P., Liu, Q., Meng, Y., Dong, P., Xu, L., y Huang, L. (2023). Exploring the efficacy of carvacrol as a biocontrol agent against pear Valsa canker. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 196, 105641. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2023.105641>